





OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25629

To cite this version:

Richelme, Aline  and Greil, Sébastien . *Évaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques dans sept élevages ovins allaitants du Limousin*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2019, 177 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

ÉVALUATION DE LA RESISTANCE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX AUX ANTHELMINTHIQUES DANS SEPT ELEVAGES OVINS ALLAITANTS DU LIMOUSIN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Aline RICHELME et Sébastien GREIL

Née, le 05 septembre 1993 à NICE (06) et Né, le 18 mars 1993 à BERGERAC (24)

Directeur de thèse : Mr Philippe JACQUIET

JURY

PRESIDENT :

Mr Gérard CAMPISTRON

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :

Mr Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mr Laurent NOUVEL

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

Mme Laurence SAGOT

Chef de projet à la Ferme expérimentale du Mourier, Institut de l'Elevage IDELE,
Haute-Vienne

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur par intérim : Frédéric Bousquet

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie - Analgésie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales réglementées*
- Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS

- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
- Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophtalmologie*
- M. **TOUITOU Florent**, *Alimentation animale*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Gérard CAMPISTRON

Professeur à l'université Paul-Sabatier de TOULOUSE

Praticien hospitalier au CHU

Faculté de Pharmacie de Toulouse

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de nos sincères remerciements et nos hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Philippe JACQUIET

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Parasitologie et Maladies Parasitaires – Zoologie

Qui nous a fait l'honneur de diriger cette thèse en nous confiant ce travail.

Pour votre grande disponibilité, vos conseils et votre investissement dans ce projet.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde gratitude et de nos respects les plus sincères.

A Monsieur le Docteur Xavier NOUVEL

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Qui a aimablement accepté de prendre part à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

A Madame Laurence SAGOT

Chef de projet à la Ferme expérimentale du Mourier

Institut de l'élevage – CIIRPO

Qui nous a permis la réalisation de ce projet en nous apportant une grande aide auprès des éleveurs.

Pour votre disponibilité vos conseils, et le temps consacré et surtout votre gentillesse.

Profonde gratitude.

A l'ensemble des personnes ayant contribué à ce travail.

A Madame Christelle GRISEZ et Madame Françoise PREVOT

Ingénieures de recherche Laboratoire de parasitologie

Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui ont participé à l'élaboration de ce projet en réalisant les manipulations PCR.

Qui ont su nous guider et nous aider d'un regard bienveillant lors de la réalisation des coproscopies.

Merci pour votre précieuse contribution.

A Mesdames et Messieurs les éleveurs ayant pris part à l'étude

Merci pour votre contribution à ce travail et de nous avoir si bien accueilli dans votre structure.

Profonde gratitude.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES FIGURES.....	17
TABLE DES TABLEAUX.....	18
TABLE DES ANNEXES.....	19
LISTE DES ABREVIATIONS.....	20
INTRODUCTION.....	23
PARTIE 1 : BIOLOGIE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX ET TRAITEMENT DES STRONGYLOSES GASTRO-INTESTINALES DES OVINS	
1 Généralités et classification des strongles gastro-intestinaux des ovins	27
2 Biologie des strongles gastro-intestinaux et signes cliniques associés	29
2.1 Haemonchus contortus	29
2.1.1 Généralités	29
2.1.2 Signes cliniques et lésionnels	29
2.2 Teladorsagia circumcincta	30
2.2.1 Généralités	30
2.2.2 Signes cliniques	30
2.3 Trichostrongylus colubriformis	31
2.3.1 Généralités	31
2.3.2 Signes cliniques	31
2.4 Cycle de développement.....	32
2.4.1 Phase parasitaire chez l'hôte	32
2.4.2 Phase libre dans l'environnement.....	33
2.4.3 Particularité du cycle : le phénomène d'hypobiose	34
2.5 Sources et transmission de l'infestation	35
2.6 Causes favorisant de contamination.....	36
3 Epidémiologie	36

3.1	Généralités	36
3.2	Développement de l'œuf au stade infectant	37
3.3	Migration et survie du stade L3.....	38
4	Physiopathologie.....	39
4.1	Physiopathologie à l'échelle cellulaire et tissulaire.....	39
4.1.1	Action traumatique	39
4.1.2	Action chimique	40
4.1.3	Action spoliatrice	40
4.1.4	Action antigénique.....	40
4.2	Physiopathologie à l'échelle de l'organisme.....	41
4.2.1	Ingestion	41
4.2.2	Malabsorption.....	41
4.2.3	Modification du métabolisme	42
4.3	Pertes économiques.....	42
5	Méthodes de diagnostic des strongyloses gastro-intestinales chez les ovins : ..	43
5.1	Mise en évidence du parasite	43
5.1.1	La coproscopie	43
5.1.2	La coproculture.....	47
5.1.3	Mise en évidence de l'ADN du parasite par des outils moléculaires	48
5.1.4	L'autopsie	50
5.2	Mesure des effets du parasitisme sur l'hôte	51
5.2.1	La note d'état corporel	51
5.2.2	Index de souillure de l'arrière-train par de la diarrhée.....	51
5.2.3	La méthode FAMACHA®	52
5.2.4	Le dosage du pepsinogène sanguin.....	53
5.3	Mesure de réponse de l'hôte face aux parasites.....	54
6	La lutte chimique contre les SGI : anthelminthiques	54

PARTIE 2 : LA RESISTANCE DES STRONGLES GASTRO-INTETINAUX OVINS AUX ANTHELMINTHIQUES

1	Notion de résistance aux anthelminthiques en élevage ovin	61
1.1	Etat des lieux de la résistance dans le monde et en France.....	61
1.1.1	A travers le monde	61
1.1.2	En Europe.....	63
1.1.3	En France	64

1.2	Conséquences de l'augmentation de la résistance	65
2	Les mécanismes de résistance et les facteurs favorisant son expansion	66
2.1	Apparition et sélection de la résistance	66
2.2	Les mécanismes moléculaires de la résistance	68
2.2.1	Mécanismes non-spécifiques.....	68
2.2.2	Mécanismes spécifiques	69
3	Les facteurs favorisant la sélection et la transmission de la résistance	72
3.1	Les facteurs biologiques intrinsèques au nématode	73
3.2	Les facteurs extrinsèques liés à la conduite d'élevage	74
4	Les stratégies de traitement des strongyloses gastro-intestinales	77
4.1	La notion de refuge	77
4.2	Stratégie de traitement ciblé et sélectif	78
4.3	Utilisation optimale et raisonnée des anthelminthiques	79
4.4	Mesures de quarantaine suite à l'introduction d'animaux	80
5	L'importance de la gestion du pâturage dans la lutte contre la résistance	81
5.1	Les stratégies préventives	82
5.2	Les stratégies d'évasion.....	83
5.3	La stratégie de dilution	83
5.4	Gestion de pâturage et traitement anthelminthique : lutte intégrée	85
6	Les alternatives au traitement chimique	85
6.1	Par L'acquisition d'une immunité contre les parasites	85
6.1.1	La vaccination	85
6.1.2	La sélection génétique d'ovins naturellement résistants	86
6.2	Par l'utilisation de plantes contenant naturellement des molécules anthelminthiques : les tannins.....	87
6.3	En Augmentant la résilience naturelle de l'hôte	87
6.4	En favorisant l'élimination des stades libres dans les fèces	87
7	Mise en évidence de la résistance	88
7.1	Tests réalisés in vivo	89
7.1.1	Le FECRT (Fecal Egg Count Reduction Test)	89
7.1.2	Le test par infestation expérimentale et bilan helminthologique	93
7.2	Tests réalisés in vitro	93
7.2.1	Le test d'éclosion d'œufs (Egg Hatch Test).....	93
7.2.2	Tests sur les stades larvaires	94

7.3	Méthode moléculaire par PCR et séquençage.....	95
-----	--	----

PARTIE 3 : EVALUATION DE LA RESISTANCE AUX ANTHELMINTHIQUES DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX DANS SEPT ÉLEVAGES DU LIMOUSIN

1	Introduction	99
2	Matériels et méthodes	100
2.1	Elevages participants à l'étude	100
2.2	Climat du Limousin.....	101
2.3	Protocole expérimental en élevage	102
2.3.1	Constitution des lots	102
2.3.2	Marquages, prélèvements et traitements à J0	103
2.3.3	Prélèvements à J14.....	104
2.4	Protocole au laboratoire	104
2.4.1	Coproscopies individuelles.....	104
2.4.2	Coproscopies de mélange	105
2.4.3	Culture larvaire	105
2.4.4	Comptage larvaire manuel	106
2.4.5	PCR en temps réel	106
3	Résultats	112
3.1	Coprologies individuelles	112
3.1.1	Résultats FECRT	112
3.1.2	Interprétation des FECRT	114
3.2	Coprologies de mélange	116
3.2.1	Résultats FECRT	116
3.2.2	Interprétation des FECRT	119
3.3	Corrélation entre coprologies individuelles et de mélange.....	120
3.4	Corrélation entre pourcentages de réduction de l'intensité d'excrétion d'œufs obtenus par coprologies individuelles (selon les guidelines de la WAAVP) et obtenus coprologie de mélange.....	121
3.5	Culture larvaire	123
3.5.1	Comparaison entre le comptage larvaire manuel et la qPCR après coproculture	123
3.5.2	Identification et proportions relatives des espèces larvaires par qPCR.....	125
4	Discussion.....	130
4.1	Le FECRT.....	130

4.1.1	L'importance du nombre d'individus et de l'excrétion fécale avant traitement .	130
4.1.2	L'âge moyen du lot	131
4.1.3	La formule du FECR utilisée	132
4.2	Efficacité des anthelminthiques	134
4.2.1	Fenbendazole (BZ).....	134
4.2.2	Lévamisole (IZD)	135
4.2.3	Ivermectine (LM)	136
4.2.4	Moxidectine (LM)	136
4.2.5	Monépantel (AADs)	137
4.2.6	Closantel (SAL)	138
4.2.7	Conclusion sur les résultats obtenus	139
4.3	Coprologie de mélange vs individuelle	140
4.4	Coprologie de mélange dans la réalisation du FECRT	141
4.5	Coproculture	142
4.6	Intérêt de la PCR temps réel.....	143
CONCLUSION.....		147
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		149
ANNEXES.....		161

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Cycle biologique des principaux strongles gastro-intestinaux des ovins (Jacquiet, 2016)	32
Figure 2 : Gamme de température permettant le développement de l'œuf non embryonné à la larve L3 infestante chez les trois espèces majeures de SGI. (O'Connor et al., 2006b).....	38
Figure 3 : Observation d'œufs de strongles digestifs indifférenciés au microscope (X400) (Jacquiet, 2016).....	44
Figure 4 : Schéma d'une lame de McMaster	45
Figure 6 : Index de souillure de l'arrière-train (Bonnetfont, Canellas, 2014).....	52
Figure 7 : La carte FAMACHA®	53
Figure 8 : Génotype en fonction de la fréquence de l'allèle de résistance dans une population	67
Figure 9 : Localisation des élevages au sein du Limousin	101
Figure 10 : Plan de plaque utilisé lors des différentes qPCR pour un élevage X donné	111
Figure 11 : Corrélation entre coprologie de mélange et coprologies individuelles...	121
Figure 12 : Corrélation entre FECR obtenus par coprologie de mélange et coprologies individuelles	122
Figure 13 : Rapport entre le comptage par qPCR et le comptage manuel	124
Figure 14 : Corrélation entre le comptage par qPCR et le comptage manuel	124
Figure 15 : Helminthofaune de l'élevage à J0.....	125
Figure 16 : Age moyen de chaque lot par élevage	132

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales espèces de strongles digestifs des ruminants et leur localisation (Eichstadt, 2017 ; Lefèvre et al., 2003)	28
Tableau 2 : Eléments de diagnose des larves L3 pour observation au microscope (Lefèvre et al., 2003)	48
Tableau 3 (a) : Anthelminthiques disponibles chez les ovins en France ; (Jacquiet, Fidelle, et al., 2014a ; Molina et al., 2008 ; Kiki-Mvouaka, 2009 ; Veillet, 2001 ; Atta, Abo-Shihada, 2000)	56
Tableau 3 (b) : Anthelminthiques disponibles chez les ovins en France ; (Jacquiet, Fidelle, et al., 2014a ; Molina et al., 2008 ; Kiki-Mvouaka, 2009 ; Veillet, 2001 ; Atta, Abo-Shihada, 2000) *** (Riviere, Papich, 2017)	57
Tableau 4 : Historique de l'apparition de résistances en élevage ovin dans le monde (Kotze, Prichard, 2016)	62
Tableau 5 : Fréquence de la résistance des SGI dans les élevages ovins en France selon la région et le type d'anthelminthique (nombre d'élevages avec résistance / nombre total d'élevages dans l'enquête) (adapté de Jacquiet et al., 2014)	65
Tableau 6 : Séquences nucléotidiques des différentes amorces et sondes utilisées (Milhes et al., 2017)	108
Tableau 7 : FECR obtenus par coprologies individuelles	113
Tableau 8 : Statut parasitaire de chaque élevage vis-à-vis du traitement testé en coprologies individuelles	116
Tableau 9 : FECR obtenus par coprologies de mélange	118
Tableau 10 : Statut de l'élevage vis-à-vis du traitement testé en coprologies de mélange	120
Tableau 11 : Concordance des résultats FECR obtenus par coprologies individuelles et par coprologies de mélange	123
Tableau 12 : Helminthofaune de l'élevage à J0	125
Tableau 13 : Comptage larvaire et proportions relatives des 3 espèces de SGI	127
Tableau 14 : Interprétation du statut résistant des espèces de strongles après qPCR	129
Tableau 15 : Comparaison du statut de l'élevage en fonction de la formule FECR utilisée	134

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Fiche explicative du protocole expérimental envoyée à chaque éleveur avant le début des manipulations.....	161
Annexe 2 : Questionnaire mis à disposition des éleveurs afin de connaître leurs paramètres zootechniques ainsi que leurs pratiques antiparasitaires.....	162
Annexe 3 : Tableau récapitulatif des réponses des éleveurs au questionnaire.....	164
Annexe 4 : Comptage larvaire manuel et par qPCR de chaque lot après coproculture (en nombre de larves/mL).....	166
Annexe 5 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage A.....	167
Annexe 6 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage B.....	168
Annexe 7 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage C.....	169
Annexe 8 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage D.....	170
Annexe 9 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage E.....	171
Annexe 10 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage F.....	172
Annexe 11 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage G.....	173
Annexe 12 : Formule du FECR ₂ à partir des coprologies individuelles avec calculs de l'intervalle de confiance à 95% dictée par les guidelines et formule du FECR en utilisant la coprologie de mélange	174
Annexe 13 : Formule du FECR ₁ en tenant compte des excréments fécaux d'œufs des lots testés et du lot contrôle avant et après traitement, d'après (Falzon et al., 2015).....	175
Annexe 14 : Comparaison de l'excrétion fécale d'œufs des brebis âgées de moins de 2 ans avec le reste du troupeau dans chaque élevage.....	176
Annexe 15 : FECR ₁ obtenus en tenant compte les excréments fécaux d'œufs des lots testés et contrôles avant et après traitement, d'après (Falzon et al., 2015).....	177

LISTE DES ABREVIATIONS

AADs : Amino-Acetonitriles Derivatives

BZ : Benzimidazoles

FEC : Fecal Egg Count (intensité de l'excrétion fécale en œuf par gramme (opg))

FECR : Fecal Egg Count Reduction (réduction de l'excrétion fécale en %)

FECRT : Fecal Egg Count Reduction Test (test de réduction de l'excrétion fécale)

g : Gramme

GABA : Acide γ -aminobutyrique

GMQ : Gain moyen quotidien (g/jour)

IDZ : Imidazothiazoles

LM : Lactones macrocycliques

mL : Millilitre

OPG : Œuf Par Gramme de matière fécale

PCR : Polymerase Chain Reaction

SAL : Salicylanilides

SGL : Strongles gastro-intestinaux

SPI : Spiroindoles

WAAVP : World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology

INTRODUCTION

Chez les animaux de rente, les nématodes parasites ont une importance majeure à l'échelle mondiale, tant d'un point de vue pathologique qu'économique. En particulier, les strongles gastro-intestinaux sont responsables chez les petits ruminants de symptômes cliniques allant d'une perte d'appétit à la mort de l'individu dans les cas les plus extrêmes.

Pour lutter contre ces parasitoses, de nombreuses molécules anthelminthiques de synthèse ont été développées à partir des années 1950. Quelques années à peine après leur mise sur le marché, en raison de leurs utilisations massives et systématiques, des résistances sont apparues à travers le monde.

Aujourd'hui, les éleveurs font face à ce problème. Souvent, une perte d'efficacité des traitements est suspectée, sans pour autant qu'une confirmation de résistance soit effectuée en élevage. De plus, la pression sociétale actuelle tend à promouvoir en agriculture et en élevage, une moindre utilisation de molécules de synthèse, dans un respect de l'environnement et du bien-être animal. L'élevage ovin en France n'est pas épargné. Il est donc désormais nécessaire pour la filière, d'évoluer vers un usage raisonné des traitements anthelminthiques, en se limitant notamment à ceux encore efficaces. Un état des lieux de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux molécules anthelminthiques est une étape nécessaire et utile aux éleveurs afin d'améliorer les moyens de lutte contre ces parasites internes.

La filière ovins viande est particulièrement bien développée en Nouvelle-Aquitaine avec 22% du cheptel français et représente le premier bassin de production de brebis allaitantes. En particulier, la Haute-Vienne est constituée de plus de 200 000 reproductrices réparties dans environ 2000 élevages (Institut de l'élevage Idèle, Les chiffres clés du GEB, Ovins 2018 productions lait et viande). C'est ce département qui portera notre attention dans cette étude.

Après une partie bibliographique s'intéressant à la biologie des strongles, aux moyens de lutte et à l'émergence de résistance, nous présenterons l'enquête réalisée dans sept élevages du Limousin, portant sur la résistance aux anthelminthiques.

PARTIE 1 :

**BIOLOGIE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX ET
TRAITEMENT DES STRONGYLOSES GASTRO-
INTESTINALES DES OVINS**

1 Généralités et classification des strongles gastro-intestinaux des ovins

Les nématodes gastro-intestinaux, communément appelés strongles gastro-intestinaux (SGI), sont l'une des causes majeures de mauvais état général et de pertes de productivité en élevages ovin et bovin à travers le monde. Les strongyloses touchent en particulier les jeunes animaux et concernent uniquement les troupeaux ayant un accès au pâturage. Elles ont donc un impact important en élevage de petits ruminants.

Les strongyloses sont des helminthoses dues à la présence et au développement de nématodes (vers ronds) de l'ordre des Strongylida dans la paroi et la lumière de la caillette ou des intestins des petits ruminants. Maladies saisonnières, elles se traduisent essentiellement par des troubles gastro-entériques avec diarrhée, ou par l'évolution d'un syndrome anémique. (Bussi ras, Chermette, 1995)

Les nématodes appartenant à l'ordre des Strongylida se caractérisent par une petite taille et un calibre réduit, une petite capsule buccale et une bourse caudale développée. Les mâles sont pourvus d'une bourse copulatrice soutenue par les côtes.

L'ordre des Strongylida se divise en deux super-familles d'intérêt :

- les Strongyloidea qui possèdent une capsule buccale bien développée et comprend les genres *Chabertia*, *Oesophagostomum* et *Bunostomum*.
- les Trichostrongyloidea montrant une capsule buccale absente ou rudimentaire et comprenant de très nombreux genres : *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia* et *Nematodirus*. (Jacquet, 1997)

Chez les petits ruminants, il est communément admis que les espèces les plus importantes en termes de fréquence et de pathogénicité sont *Haemonchus contortus* et *Teladorsagia circumcincta* dans la caillette et *Trichostrongylus colubriformis* dans l'intestin grêle. Ces trois espèces représentent 95% de la charge parasitaire en strongles.

Ce sont donc celles qui retiendront notre attention lors de cette étude.

Super-famille	Famille	Sous-famille	Genre	Espèce	Hôtes	Localisation adultes	Répartition géographique
Trichostrongyloidea	Trichostrongylidés	Haemonchinés	<i>Haemonchus</i>	<i>contortus</i>	Ovins, Caprins	Abomasum	Cosmopolite, zones tropicales humides ++
				<i>placei</i>	Bovins		
				<i>bispinosus</i>	Ovins, Caprins		Amérique du sud, Asie, (Inde)
				<i>longistipes</i>	Camélins, Ovins, Caprins		Afrique, Moyen-Orient
		Trichostrongylinés	<i>Trichostrongylus</i>	<i>axei</i>	Bovins, Ovins, Caprins, Equidés, Porcin	Abomasum	Cosmopolite
				<i>colubriformis</i>	Ovins, Caprins (Bovins)	Intestin grêle	
				<i>vitrinus</i>	Ovins, Caprins		
				<i>capricola</i>	Ovins, Caprins		Zones tropicales
				<i>probulurus</i>	Camélins (Ovins, Caprins, Bovins)	Abomasum	Zones tempérées et froides
				<i>ostertagi</i>	Bovins (Ovins)		
		Ostertagiinés	<i>leptospicularis</i>	Cervidés (Ovins)	Abomasum		
			<i>Teladorsagia</i>	<i>circumcincta</i>	Ovins, Caprins	Abomasum	Cosmopolite
		Cooperiinés	<i>Cooperia</i>	<i>curticei</i>	Ovins, Caprins	Intestin grêle	Cosmopolite
				<i>oncophora</i>	Bovins		
				<i>punctata</i>	Bovins		
				<i>pectinata</i>	Bovins		
		Molinéidés	Nematodirinés	<i>Nematodirus</i>	<i>filicollis</i>	Ovins, Caprins (Bovins)	Intestin grêle
	<i>spathiger</i>				Ovins, Caprins (Bovins)		
	<i>battus</i>				Ovins (Bovins)	Nord Europe	
	Strongyloidea	Strongylidés	Chabertiinés	<i>Chabertia</i>	<i>ovina</i>	Ovins, Caprins (Bovins)	Colon
Trichonématidés		Oesophagostomatiinés	<i>Oesophagostomum</i>	<i>colombianum</i>	Ovins, Caprins (Camélins)	Colon	Afrique tropicale
				<i>venulosum</i>	Ovins, Caprins		Cosmopolite
			<i>radiatum</i>	Bovins, Buffle			

Tableau 1 : Principales espèces de strongles digestifs des ruminants et leur localisation (Eichstadt, 2017 ; Lefèvre et al., 2003)

2 **Biologie des strongles gastro-intestinaux et signes cliniques associés**

2.1 *Haemonchus contortus*

2.1.1 Généralités

Haemonchus contortus est le plus grand des parasites de la caillette, facilement visible à l'œil nu lors d'autopsies. Une femelle adulte peut mesurer jusqu'à 3 cm de longueur et 0,8 mm de diamètre. C'est avant tout un parasite des petits ruminants mais il peut également être retrouvé exceptionnellement chez les bovins et assez fréquemment chez certaines espèces de Cervidés comme le chevreuil. Les femelles sont très prolifiques ; elles peuvent produire jusqu'à 10 000 œufs par jour dans les conditions optimales. (Ian Sutherland, Scott, 2010). C'est également l'espèce la plus pathogène. Ce sont des vers hématophages, qui provoquent des anémies aiguës. Chaque vers prélève environ 0,05 mL de sang par jour, et le suintement de sang associé provoque une perte totale d'environ 250 mL par jour, pour un animal infesté de 5000 *H. contortus*. (Urquhart et al., 1996)

2.1.2 Signes cliniques et lésionnels

Dans les cas aigus d'haemonchose, l'hématocrite chute environ deux semaines après l'infestation et est caractérisée par une perte progressive et dramatique des globules rouges pouvant mener à terme à une anémie visible cliniquement.

Cliniquement, il existe plusieurs cas possibles (Urquhart et al., 1996) :

- Haemonchose hyper-aigue : les animaux décèdent brutalement d'une hémorragie digestive. Les lésions ne concernent que la caillette. On y observe à l'autopsie une paroi hyperplasiée et noduleuse ainsi que des vers du stade L4 à adulte, de couleur rouge. La muqueuse est parsemée de pétéchies et de zones de nécrose provoquée par la présence de milliers de vers (jusqu'à 50 000). (Lefèvre et al., 2003)

- Haemonchose aiguë : on observe une anémie, différents degrés d'œdème, parmi lequel l'œdème de l'auge, aussi appelé signe de la bouteille, qui est l'un des signes les plus reconnaissables bien que non pathognomonique. On observe également une léthargie, des fèces de couleur sombre. La diarrhée n'est pas caractéristique d'une haemonchose.
- Haemonchose chronique : c'est la forme la plus fréquemment rencontrée. Elle peut se diviser en deux phases : une première phase lors de laquelle les brebis présentent une chute drastique de la lactation, une faiblesse progressive et une perte de poids. Une seconde phase où ces signes cliniques s'intensifient, et où apparaissent une anorexie et un amaigrissement pouvant aller jusqu'à la cachexie. Une anémie normochrome normocytaire apparaît et évolue vers une anémie hypochrome microcytaire. Des œdèmes apparaissent (en région sous-mandibulaire, sous le ventre et aux coudes). Une mortalité peut-être observée et s'étale sur plusieurs semaines.

2.2 *Teladorsagia circumcincta*

2.2.1 Généralités

Anciennement appelé *Ostertagia circumcincta*, ce ver est souvent cité comme le « ver brun de l'estomac ». On le retrouve uniquement chez les petits ruminants. Les femelles mesurent environ 1 cm de longueur. Les larves sont histophages et les adultes hématophages. Les effets pathogènes majeurs sont causés par les larves qui se logent dans les glandes gastriques. Les femelles sont moins prolifiques que celles d'*Haemonchus contortus*, elles peuvent produire en moyenne 100 à 200 œufs par jour par femelle (Jacquiet, 2016).

2.2.2 Signes cliniques

Lors d'infection majeure, on peut observer un manque d'appétit marqué, de la diarrhée, une anémie et une perte de protéines du plasma dans le tractus digestif (hypoprotidémie). La mort peut parfois subvenir dans les cas les plus graves. Mais

dans les cas les plus fréquents, cette strongylose provoque une diarrhée intermittente, et une mauvaise croissance, voire une perte de poids. (Zajac, 2006)

Après l'infestation, les larves de *T. circumcincta* demeurent pendant une période de temps s'étalant d'une semaine jusqu'à 6 mois dans les glandes de la caillette. Cela va provoquer des changements au sein des glandes et la formation de nodules visibles à la surface de l'abomasum. (Zajac, 2006) A l'autopsie les nodules pourront donc être observés mais les vers sont difficiles à trouver au sein du contenu abomasal ou fréquemment manqués.

2.3 *Trichostrongylus colubriformis*

2.3.1 Généralités

Cette espèce est plus petite que les deux autres, les adultes mesurant moins de 1 cm de longueur (entre 4 et 6 mm). Ce sont des parasites chymivores de l'intestin grêle, importants chez la brebis et la chèvre. *Trichostrongylus* est le troisième genre le plus souvent retrouvé, provoquant des signes cliniques dans le cas d'infection massive (diarrhée sévère, perte de poids, mort), mais il est plus fréquemment retrouvé en association avec d'autres nématodes comme *Teladorsagia*. Les vers sont rarement visibles à l'autopsie. C'est l'espèce la moins prolifique, les femelles pouvant produire jusqu'à 100 œufs par jour. (Zajac, 2006)

2.3.2 Signes cliniques

La forme aigue est observée chez les agneaux de préférence, infestés massivement en début de pâture au printemps. On observe une diarrhée verdâtre, une déshydratation, ainsi qu'une anémie peu marquée. Ces signes sont associés à un retard de croissance et un amaigrissement. A l'autopsie, on observe une paroi intestinale hypertrophiée et œdématiée, siège d'une entérite congestive catarrhale ou exsudative, voire d'aspect diphtérique. Les villosités et microvillosités sont atrophiées. La forme chronique est peu caractéristique, on observe des symptômes liés à une malnutrition (amaigrissement, adynamie, épisodes diarrhéiques).

2.4 Cycle de développement

Les strongyloses gastro-intestinales sont cosmopolites, connues dans toutes les régions d'élevage et en particulier dans les régions à climat humide. Ce sont des maladies du pâturage dont la transmission est favorisée par les pluies et l'humidité, d'où un caractère saisonnier. En France, les périodes à haut risque d'infestation sont la fin de printemps/début d'été et l'automne.

Le cycle biologique des Strongylida est commun aux trois espèces citées précédemment. C'est un cycle monoxène, c'est à dire que le stade infestant infeste directement l'hôte définitif, sans intervention nécessaire d'hôte(s) intermédiaire(s). Le cycle se divise en deux phases : une phase parasitaire ou interne, chez l'hôte définitif, ici la brebis, et une phase externe ou libre, dans l'environnement.

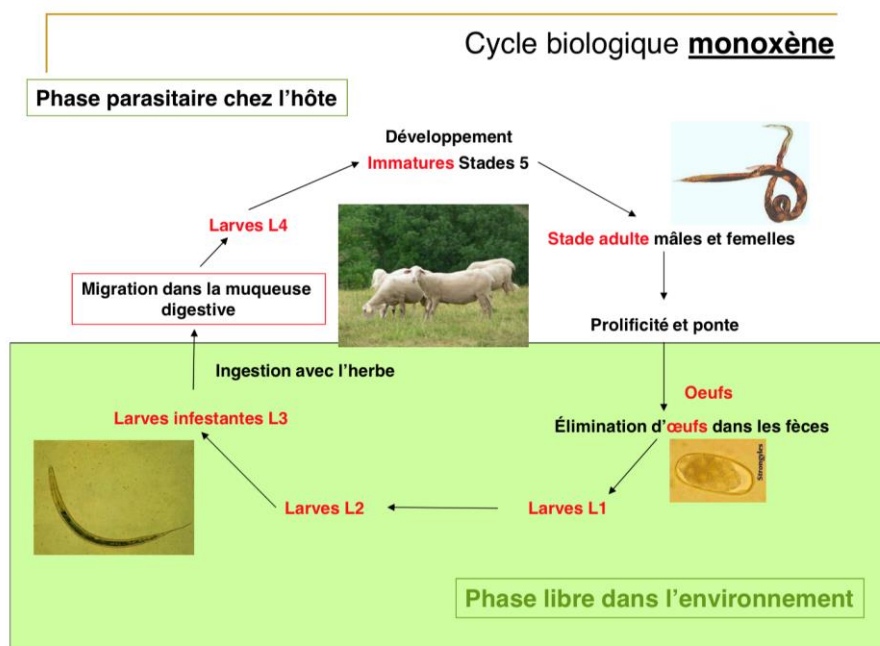


Figure 1 : Cycle biologique des principaux strongyles gastro-intestinaux des ovins (Jacquet, 2016)

2.4.1 Phase parasitaire chez l'hôte

La phase parasitaire chez l'hôte commence par l'ingestion d'herbe sur laquelle se trouve une larve L3. La larve L3 va ensuite perdre son exuvie ou gaine, en

général dans l'organe précédant l'organe cible, sous l'effet du pH et de la composition chimique du rumen ou de la caillette. S'ensuit une migration dans la muqueuse digestive permettant la mue de la larve L3 vers la larve L4. La larve L4 ressort ensuite dans la lumière de l'organe qu'elle parasite (caillette ou intestin grêle), et se transforme en ver immature puis en vers adulte 17 à 20 jours après contamination. Après l'accouplement, les femelles pondent des œufs qui sont ensuite éliminés avec les selles dans le milieu extérieur. La période prépatente (durée entre la contamination de l'hôte et l'excrétion des premiers œufs) dure en général 3 semaines. La survie des adultes au sein de l'hôte est inversement proportionnelle au potentiel prolifique de l'espèce : les adultes d'*Haemonchus contortus* et de *Teladorsagia circumcincta* survivent quelques mois, contre un an pour *Trichostrongylus colubriformis*. (Jacquiet, 2016)

2.4.2 Phase libre dans l'environnement

Lors de la phase externe du cycle, les œufs présents dans les fèces au stade morula vont s'embryonner puis éclore pour donner une première larve L1, qui après deux mues successives donnera une larve L2 puis L3 infestante. Jusqu'à ce stade, la larve reste dans les matières fécales qui lui apportent protection et nutrition. Seules L1 et L2 se nourrissent de microparticules et de microorganismes présents dans les matières fécales et accumulent des réserves. Lors de la mue de L2 à L3, la L3 reste dans l'exuvie de L2. La larve L3 ne se nourrit pas car elle ne possède plus d'appareil valvulaire, dit « rhabditoïde », sur son œsophage. La larve L3 survit grâce à ses réserves glycogéniques et lipidiques stockées dans ses cellules intestinales. En revanche, elle va pouvoir se déplacer. (Lefèvre et al., 2003)

L'une des particularités des strongles est leur capacité à se rendre disponibles afin de favoriser leur ingestion passive. En effet la larve L3, lorsque les conditions sont optimales, va effectuer deux migrations. La première est horizontale, afin de s'éloigner des matières fécales ; il lui faut sortir de l'anneau de répugnance autour des fèces déposées sur le pâturage. Elle va ensuite migrer verticalement de quelques centimètres sur les brins d'herbe grâce au film de rosée afin d'avoir d'avantage de chance d'être ingérée.

La durée de la phase externe du cycle dépend des conditions environnementales, mais elle est en général de 8 à 10 jours. L'éclosion de l'œuf survient au bout de 12-24 heures, si elle n'est pas inhibée par de fraîches températures. La mue L1-L2 survient 30 à 60 heures après éclosion, et la mue L2-L3, 4-5 jours post éclosion. La durée minimum de la phase externe du cycle chez *Haemonchus contortus* dans les conditions optimales est de 3 à 4 jours. (Zajac, 2006)

La larve L3 ainsi que l'œuf embryonné sont les deux stades les plus résistants dans l'environnement. L'évolution des œufs jusqu'en larves L3 est soumise aux contraintes environnementales (voir Partie 1, 3.2).

2.4.3 Particularité du cycle : le phénomène d'hypobiose

Aussi appelé inhibition ou arrêt du développement larvaire, ce phénomène peut être défini comme une cessation temporaire du développement d'un nématode à un point précis de son cycle et précoce du stade parasite. Cette interruption du cycle est facultative, et ne survient que chez certains animaux, dans certaines circonstances ou à certaines périodes de l'année.

Le stimulus initiant l'arrêt du développement peut-être exogène ou lié à un processus immunologique. Pour les espèces qui nous intéressent le stimulus décrit est le plus souvent environnemental. Il est perçu par les stades libres dans l'environnement avant ingestion par l'hôte. Ce phénomène peut être vu comme une stratégie mise en place par le parasite pour éviter des conditions climatiques défavorables à sa progéniture. (Urquhart et al., 1996)

Trois éléments doivent être mis en évidence simultanément afin de pouvoir parler d'hypobiose (Lefèvre et al., 2003) :

- Les larves inhibées retrouvées au sein de l'hôte doivent être au même stade du cycle évolutif et celui-ci est caractéristique de l'espèce. Il s'agit de la larve L3 pour *T. colubriformis* ou de la larve L4 pour *H. contortus* et *T. circumcincta*.
- Les larves sont de même taille, immobiles, inactives et leur métabolisme est réduit. Elles peuvent se situer en surface de l'organe, dans les glandes de la muqueuse digestive ou plus en profondeur dans la sous-muqueuse. On n'observe

pas d'atteinte liée à une quelconque réaction immunitaire de l'hôte et elles sont également peu sensibles aux anthelminthiques.

- Le nombre de larves inhibées doit être plus important que les autres stades du parasite au sein de l'hôte.

Le parasite demeure donc immature au sein de son hôte jusqu'au retour de conditions plus favorables.

2.5 Sources et transmission de l'infestation

Les sources principales de parasites sont les ovins eux-mêmes en premier lieu, secondairement d'autres ruminants domestiques ou sauvages et plus rarement d'autres herbivores.

Les jeunes animaux sont fortement touchés, surtout à partir de 2 à 3 mois d'âge. Leur système immunitaire étant incomplet, ils sont incapables de s'opposer à l'installation des parasites dans leur tube digestif et sont donc une source majeure de contamination du milieu extérieur avec les œufs excrétés.

Néanmoins, la source essentielle de parasites est représentée par les femelles en début de lactation ou en état de gestation avancée. En effet, chez ces individus l'intensité de la ponte augmente, élévation désignée par le terme de « periparturient rise » ou augmentation péripartum de l'excrétion fécale des œufs. Lors de cette période, les défenses immunitaires de l'hôte diminuent, des femelles de strongles déjà présentes dans le tube digestif prennent donc un rythme de ponte plus important. A celles-ci s'ajoutent rapidement de nouvelles générations d'adultes issues des femelles déjà présentes ou issues de larves L4 jusque-là inhibées, présentes dans la paroi du tube digestif. Enfin les brebis peuvent aussi s'infester facilement à partir de larves L3 présentes sur les pâtures. Une baisse d'immunité peut également subvenir, à la faveur d'un stress, d'une malnutrition ou de maladies associées et provoquer une reprise de la ponte des vers. (Lefèvre et al., 2003)

2.6 Causes favorisantes de contamination

Les causes favorisantes de contamination sont tout d'abord liées au mode d'élevage. Les strongyloses digestives sont des maladies du pâturage ; les animaux se contaminant par ingestion d'herbe principalement.

Comme vu précédemment les conditions climatiques jouent un rôle déterminant sur le développement et la survie des SGI en pâture. Les facteurs qui favorisent le contact entre l'hôte et les larves L3, les facteurs de concentration ou de dispersion des larves interviennent également. La dilution des éléments contaminants a lieu lors de pousse rapide de l'herbe au printemps et à l'automne ou en début de saison des pluies. Cet effet de dilution modère l'infestation des individus. En revanche en été les larves ont tendance à s'accumuler dans les zones qui gardent une certaine humidité.

Enfin la concentration d'animaux dans les rares espaces verts et humides entraîne une augmentation du piétinement ce qui désagrège les matières fécales et libèrent les œufs et les larves s'y trouvant en refuge.

3 Epidémiologie

3.1 Généralités

Haemonchus contortus est le nématode le plus important dans les zones tropicales et sub-tropicales ou dans les zones à fortes précipitations pendant la période estivale. L'Europe ne semble donc pas, de prime abord, une zone de prédilection d' *H. contortus* mais sa prévalence de plus en plus importante en France, au Danemark ou aux Pays-Bas s'explique par le phénomène d'hypobiose.

T. circumcincta et *T. colubriformis* sont les nématodes dominants en hiver et dans les zones pluvieuses. Leur survie réside dans leur grande résistance à la dessiccation et leur habilité à se développer à des températures moindres qu'*H. contortus*. En région méditerranéenne, les hivers doux et humides favorisent le développement de ces deux espèces, même si la population de larves diminue pendant la période chaude et sèche. Dans les zones tempérées, ces deux espèces

sont dominantes, le climat doux créant des conditions optimales de développement des larves. Cela inclue les régions telles que le Nord de l'Europe où le pic d'infestation survient en général en été/automne.

Chaque stade de développement des larves est contrôlé par un couple température/humidité optimal spécifique à chaque espèce, qui lui permet d'assurer un rapport maximal « nombre de larves infestantes obtenues/ nombre d'œufs émis ».

3.2 Développement de l'œuf au stade infectant

Il existe des différences importantes de résistance aux basses températures des stades pré-infectants entre les 3 espèces de strongles étudiées. *T. circumcincta* est capable d'atteindre le stade infectant à des températures plus faibles que *T. colubriformis*. Le temps d'incubation des œufs en larves est également plus court pour *T. circumcincta* que pour *H. contortus* : 48 heures contre 96 heures à 10°C selon une étude menée par Jasmer et al (1986). Lors d'une étude conduite par McKenna (1998), après une incubation de fèces pendant 3 jours à 4°C, la viabilité des œufs était de 60% pour *H. contortus*, 80% pour *Trichostrongylus* spp et supérieure à 90% pour *Teladorsagia* spp. Après 12 jours, aucun œuf d'*H. contortus* n'était encore viable, alors que plus de 30% de ceux de *T. circumcincta* et *T. colubriformis* l'étaient. (O'Connor et al., 2006a)

En règle générale, les fluctuations de températures à court terme sont plus nocives sur les stades pré-infectants que sur les larves infectantes.

Les données consistantes de nombreuses études ont été combinées afin d'estimer les gammes de températures auxquelles les trois espèces étudiées peuvent se développer (Figure 2).

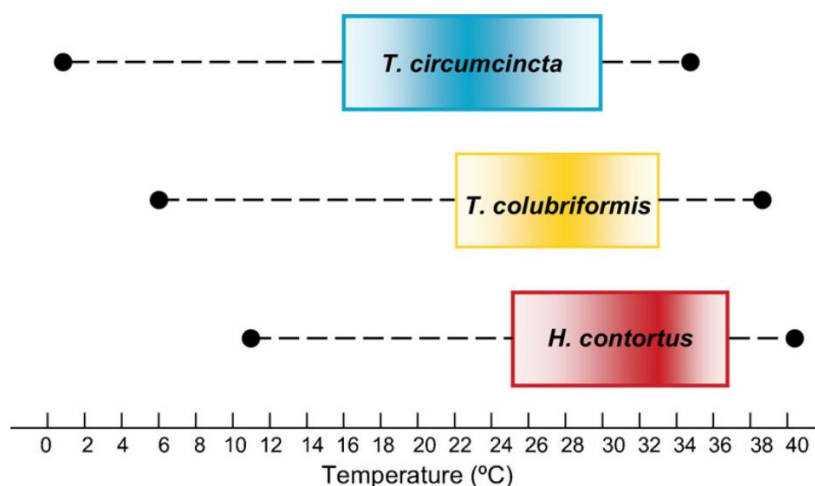


Figure 2 : Gamme de température permettant le développement de l'œuf non embryonné à la larve L3 infestante chez les trois espèces majeures de SGI. (O'Connor et al., 2006b)

Les gammes de températures permettant un excellent développement sont indiquées par les boîtes, l'optimum thermique étant marqué par une couleur de plus forte intensité. Les lignes horizontales correspondent aux températures minimales et maximales de développement.

3.3 Migration et survie du stade L3

Une fois le développement jusqu'au stade L3 terminé, les trois espèces majeures de SGI sont considérablement moins sensibles vis-à-vis des conditions climatiques. Cela pourrait-être dû à leur habilité à se déplacer vers des microenvironnements plus favorables.

La larve L3 d'*Haemonchus contortus* survit très bien dans un milieu chaud et humide, mais peu de temps si le temps est sec qu'il soit chaud ou tempéré, ou aux hivers à température négative. Une des caractéristiques d'*H. contortus* est sa très faible résistance à la déshydratation.

Les conditions optimales de survie de la larve L3 de *T. colubriformis* sont un temps frais ou chaud mais humide néanmoins elle survit mal aux températures négatives. Enfin concernant *T. circumcincta*, L3 survit très bien aux temps frais et humide et aux températures négatives. En revanche elle survit mal à de fortes températures associées à un temps sec.

La durée de vie de la larve infectante en pâture est un paramètre important à prendre en compte dans la gestion de la mise au pâturage et le contrôle du parasitisme. La larve L3 conservant l'exuvie de la larve L2, cela lui confère une grande résistance dans le milieu mais l'empêche de se nourrir. Elle survit donc uniquement sur ses réserves, une fois celles-ci épuisées, la larve meurt. Un climat doux, et humide permet une survie des larves pendant plusieurs mois. La larve L3 survit beaucoup moins longtemps si le climat est chaud. Dans les zones tempérées des Etats-Unis, il peut être considéré qu'une parcelle qui a été pâturée par des brebis, doit être mise au repos (en jachère) au moins 6 mois si le temps est doux, 3 mois lors de fortes chaleurs. (Zajac, 2006)

Pour résumer, les faibles températures permettent une décontamination progressive mais partielle des pâtures car certaines espèces survivent très bien pendant l'hiver (*T. circumcincta* entre autres survit parfaitement bien sous la neige). En revanche l'alternance gel/dégel est très défavorable pour les larves. Le facteur limitant principal de survie des larves est la sécheresse ; elles ne survivent que rarement à une forte dessiccation.

4 Physiopathologie

4.1 Physiopathologie à l'échelle cellulaire et tissulaire

La présence de SGI au sein du tube digestif entraînent différentes actions pathogènes : traumatiques, chimiques, spoliatrices et antigéniques. (Lefèvre et al., 2003)

4.1.1 Action traumatique

Les lésions de la paroi digestive par les SGI sont d'abord dues à un effet mécanique. En effet, certaines de leurs structures anatomiques leur permettent de disséquer les tissus de l'hôte. Chez les Trichostrongylidés, seul *Haemonchus contortus* semble utiliser sa lancette buccale pour dilacérer la muqueuse de la caillette et rompre les vaisseaux sanguins de la lamina propria. Les strongles

chymivores, de par un contact étroit entre leurs cuticules et les villosités intestinales, sont responsables d'une abrasion tissulaire, donc d'une altération des villosités. De plus, pour la majorité des espèces de strongles, les larves pénètrent dans la paroi plus ou moins profondément ce qui provoque la compression et la disjonction des assises cellulaires ainsi que l'occlusion des glandes.

4.1.2 Action chimique

Les lésions tissulaires observées résultent également en grande partie de l'action chimique des produits d'excrétion-sécrétion des larves et des adultes de strongles. La production de ces substances variées contribue à assurer le développement, la survie et la reproduction du parasite chez son hôte.

H. contortus, par exemple, secrète des cystéines protéases qui sont des enzymes qui hydrolysent la trame conjonctive qui borde l'épithélium abomasal et les capillaires sanguins. La substance hydrolysée est ensuite ingérée par le ver qui peut donc continuer son déplacement vers l'aliment sanguin. D'autres enzymes comme la phospholipase C et d'autres peptidases assurent quant à elles, la lyse cellulaire et la dégradation des protéines sanguines (hémoglobine, fibrinogène, plasminogène)

Chez *T. circumcincta*, des métalloprotéases hydrolysent les protéines constitutives du tissu conjonctif, en particulier les chaînes de fibrinogène.

4.1.3 Action spoliatrice

L'action spoliatrice est surtout marquée chez les vers hématophages comme *H. contortus* dès le stade L4 et, dans une moindre mesure, pour *T. circumcincta*. Les protéases secrétées ont des propriétés anesthésiques, anticoagulantes et thrombolytiques, causant des saignements de la muqueuse digestive. Les ponctions répétées et le saignement digestif entraînent à la longue une diminution des réserves en fer, d'où une incapacité à régénérer l'anémie.

4.1.4 Action antigénique

Chez les animaux non naïfs, le dégainement des larves L3, les mues successives et les produits d'excrétion-sécrétion sont à l'origine d'une forte réaction

antigénique de la part de l'hôte. Cette réaction consiste en une dégranulation des mastocytes de la lamina propria aboutissant à la libération d'amine toxique et à la production de mucus. Cette réaction inflammatoire immédiate permet parfois l'expulsion des parasites mais peut aussi, lorsqu'elle est exacerbée, aboutir à des phénomènes inflammatoires nocifs plus ou moins étendus, et causer notamment de la diarrhée.

4.2 Physiopathologie à l'échelle de l'organisme

Par leur présence, les parasites perturbent les trois étapes principales de l'assimilation des aliments par l'hôte : l'ingestion, la digestion, et la métabolisation.

4.2.1 Ingestion

Contrairement à la croyance commune, les infestations de la caillette ou de l'intestin grêle des ruminants n'entraînent pas de polyphagie, mais plutôt une réduction de consommation d'aliments. Lors d'infestation très importante, elle peut causer une anorexie totale. Pour compenser cette baisse d'ingestion, les animaux adoptent un comportement de tri et sélectionnent les aliments à forte concentration protéique.

4.2.2 Malabsorption

La présence de vers est responsable tout d'abord de lésions des muqueuses, l'épithélium étant la structure la plus touchée.

Dans la caillette, les glandes gastriques sont modifiées. Les cellules pariétales qui sécrètent de l'acide chlorhydrique sont en nombre diminué. Ceci entraîne une augmentation du pH gastrique et entrave le bon fonctionnement de certaines enzymes (comme la pepsine) indispensables à la digestion.

Dans l'intestin, accompagnant l'altération des entérocytes, la lésion la plus caractéristique est l'abrasion des villosités, qui est proportionnelle à la charge parasitaire. Or la bordure en brosse est due à l'expansion de la membrane apicale des cellules absorbantes, support membranaire de nombreuses enzymes. Ces

lésions entraînent donc une diminution de l'activité enzymatique impliquée dans la dernière étape de la digestion.

Que ce soit dans la caillette ou dans l'intestin, la présence de vers entraîne également d'importantes perturbations de la motricité digestive ce qui va influencer sur le temps de contact entre les nutriments et les épithéliums, ainsi que sur le bon transit du chyme.

Enfin, les lésions tissulaires et cellulaires causées par la présence de vers, vont entraîner un défaut de perméabilité des épithéliums. Dans la caillette, cela va causer un reflux du pepsinogène vers la circulation sanguine, qui ne sera donc pas transformé en pepsine. Dans l'intestin, des fuites plasmatiques vers la lumière de l'intestin sont possibles.

4.2.3 Modification du métabolisme

Lors de parasitisme, la synthèse de protéines est accrue au niveau du foie et des épithéliums digestifs. Ceci a pour but de compenser les pertes et de rétablir l'homéostasie sanguine. Cela permet également de maintenir l'intégrité du tractus digestif (renouvellement accéléré de cellules épithéliales, production de mucus, etc.), mais se fait au détriment des sites habituels d'anabolisme tels que les muscles striés, la mamelle ou le follicule pileux, ce qui va avoir pour conséquence des pertes zootechniques.

4.3 Pertes économiques

L'importance des infections par des SGI sur les performances des ovins est bien connue. Il semblerait que la baisse de production de lait et une prise de poids moins importante soient les deux conséquences les plus importantes, devant les pertes liées à la production de laine. De plus, la baisse de GMQ chez les agneaux serait linéairement liée à la charge parasitaire. (Mavrot et al., 2015)

Il semblerait que la perte de poids soit due d'une part à l'infestation, donc à la présence des strongles, mais également une conséquence de la réponse immunitaire de l'hôte. La diminution du gain de poids chez des agneaux infectés par *T. colubriformis* est plus importante chez les animaux immunocompétents que chez

les animaux immunodéprimés expérimentalement. 75% de la réduction du taux de croissance d'agneaux allaitants élevés en pâture et infectés par *T. colubriformis*, serait imputable à la réponse immunitaire de l'hôte. (Dever et al., 2016).

5 Méthodes de diagnostic des strongyloses gastro-intestinales chez les ovins :

Le dépistage des strongyloses digestives chez les petits ruminants repose sur trois piliers : d'une part la mise en évidence directe du parasite ou de son ADN ; d'autre part la mesure des effets du parasitisme sur l'hôte et enfin la mesure des réponses de l'hôte face à l'agression parasitaire. (Jacquiet, Canellas, et al., 2014)

5.1 Mise en évidence du parasite

5.1.1 La coproscopie

C'est la méthode couramment utilisée. Les coproscopies peuvent être qualitatives (mise en évidence d'éléments parasitaires seule) ou quantitatives (décompte du nombre moyen d'éléments parasitaires par gramme de fèces) afin d'évaluer l'intensité d'excrétion d'œufs de ces parasites dans les matières fécales. La méthode quantitative est la plus intéressante car elle permet de déterminer un niveau d'infestation et de proposer à l'éleveur une marche à suivre, décision de traitement ou non.

- **Prélèvement de fèces :**

Le prélèvement de fèces doit se faire préférentiellement par voie rectale, et le conditionnement doit être individuel et identifié. Si le prélèvement par voie rectale est difficilement réalisable alors seules les selles fraîches trouvées au sol peuvent être utilisées. Pendant le laps de temps entre le prélèvement et l'analyse coprologique, les fèces doivent-être conservés dans un milieu réfrigéré (+4°C). En effet, les œufs de *T. circumcincta* peuvent évoluer rapidement en larves L1 si les températures sont supérieures à 10°C. La congélation n'est pas un bon moyen de conservation. En

effet, les œufs peuvent éclater à la décongélation et rendrait donc l'analyse peu fiable.

- Examen microscopique des prélèvements

Les œufs d'*H. contortus*, de *T. circumcincta* et de *T. colubriformis* sont parfaitement visibles au microscope (grossissement X100 ou X400). En revanche, il est impossible de les distinguer avec certitude car ils se ressemblent beaucoup trop, contrairement aux œufs de *Nematodirus spp* ou de *Strongyloides papillosus* facilement identifiables. L'identification des espèces de strongles n'est donc réalisable qu'après coproculture. Ce sont les larves qui seront reconnaissables par leur caractères morphologiques et morphométriques (voir Tableau 2).

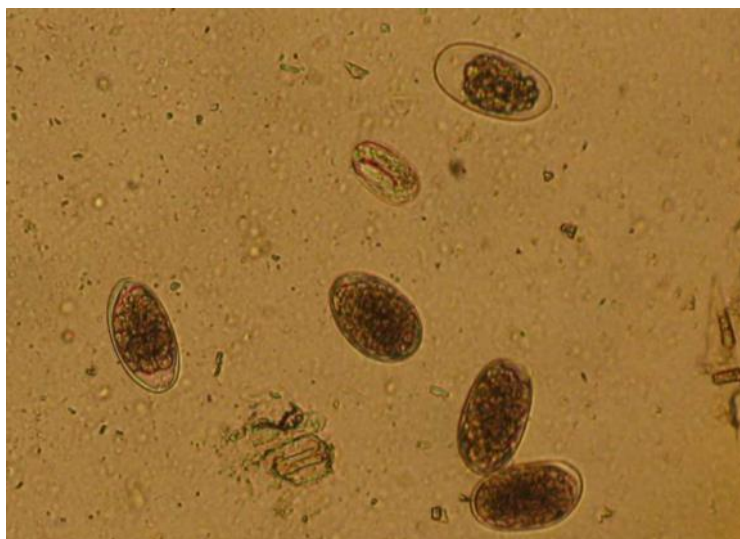


Figure 3 : Observation d'œufs de strongles digestifs indifférenciés au microscope (X400)
(Jacquet, 2016)

- La technique de McMaster

Plusieurs méthodes de coprologies quantitatives existent mais la plus utilisée en laboratoire est la technique de flottation en lames de McMaster.

Cette technique utilise le principe d'enrichissement par flottation : cela consiste à diluer le prélèvement dans une solution de densité élevée, afin de concentrer les éléments parasitaires, de densité inférieure, à la surface du liquide de

flottation. Pour la recherche des œufs de strongles, un liquide de densité supérieure ou égale à 1,2 est utilisé. Une solution de densité égale à 1,2 est facilement obtenue par saturation d'eau en sel (NaCl). Pour se faire, 400g de sel de cuisine sont ajoutés dans 1000 mL d'eau.

Par la suite, 3g de matière fécale sont dilués dans 42 mL de la solution saturée en sel préalablement préparée. Le tout est ensuite broyé à l'aide d'un pilon dans un mortier afin d'obtenir un mélange homogène. Le mélange est ensuite filtré trois fois au travers d'une passoire à thé afin d'éliminer les gros débris végétaux. Après homogénéisation obligatoire avant chaque prélèvement, une partie du liquide obtenu est prélevé à l'aide d'une pipette et chargé dans les deux chambres d'une lame de Mc Master (figure 6). Les œufs sont moins denses que le liquide de flottation ; ils vont donc se concentrer à la surface de la lame en 5 minutes environ. La lame peut ensuite être observée au microscope optique à l'objectif x10 ou x40.

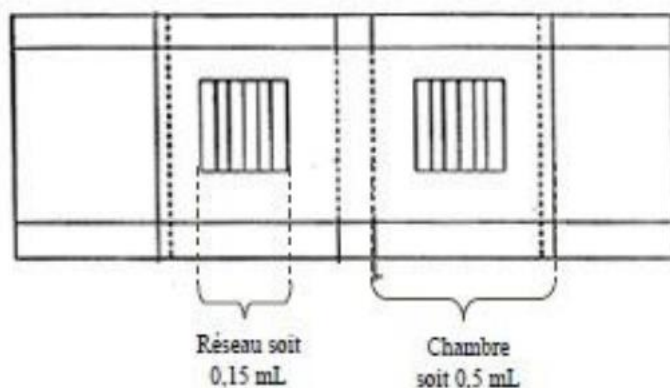


Figure 4 : Schéma d'une lame de McMaster

Chaque réseau a un contenu de 0,15 mL soit 1 : 300^e du volume total de mélange préparé (42 mL). Chaque œuf compté au sein d'un réseau correspond donc à 300 œufs pour 3 grammes soit 100 œufs pour 1 gramme de fèces.

Par déduction si les deux réseaux sont comptés, un œuf correspond à 50 œufs par gramme de matières fécales (opg). Si aucun œuf n'est trouvé dans les deux réseaux, on cherche alors le nombre d'œufs présents dans les deux chambres en dehors des réseaux. Une chambre ayant un contenu de 0,5 mL, un œuf trouvé en dehors du réseau correspond à 15 opg.

- La coproscopie de mélange

Lors du dépistage des strongyloses à l'échelle d'un troupeau, mesurer l'intensité d'excrétion de manière individuelle sur un grand nombre d'individus entrainerait un coût trop important pour l'éleveur (compter une dizaine d'euros par analyse individuelle). Il est donc envisageable de réaliser des coproscopies quantitatives sur plusieurs individus à la fois, technique autrement appelée coproscopie de mélange. On procède donc à un échantillonnage dans un lot de brebis dont on souhaite déterminer l'intensité moyenne de l'excrétion fécale. Il est recommandé de réaliser 15 prélèvements individuels dans le lot à tester. Par la suite, 1 gramme de chaque prélèvement, conservé de manière individuelle, sont mélangés et homogénéisés dans un mortier. Sur les 15 grammes de ce mélange, 3 grammes sont récupérés et analysés de la même manière que décrite précédemment pour les coproscopies individuelles.

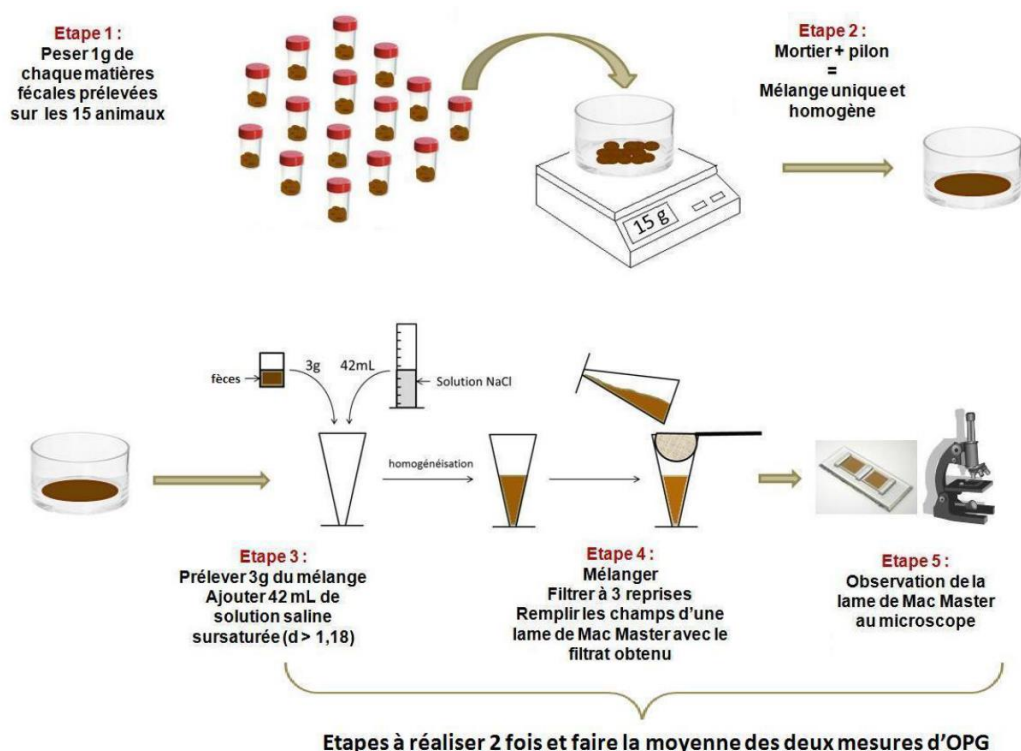


Figure 5 : Réalisation de la coproscopie de mélange (Jacquiet, 2016)

Il existe une très forte corrélation ($r = 0,98$) entre les moyennes de 15 valeurs individuelles d'excrétion fécale et la moyenne de 2 valeurs obtenues après mélange

des 15 prélèvements à tester, ce qui confirme qu'une analyse par coproscopie de mélange donne une bonne évaluation de l'intensité moyenne de l'excrétion fécale à l'échelle d'un lot. (Bonnetfont, Canellas, 2014)

Il a également été montré une forte corrélation ($r = 0,97$) entre les moyennes de 10 valeurs individuelles d'excrétion fécale et la moyenne après mélange (mélange de 3 grammes de 10 prélèvement individuels). (Morgan et al., 2005)

Il n'existe pas de consensus qui indique à partir de quelle valeur d'excrétion d'œufs un traitement est conseillé. On peut néanmoins considérer qu'un animal excréant moins de 500 opg est faiblement parasité et en l'absence de signes cliniques associés ne nécessite pas de traitement immédiat. Un animal excréant entre 500 et 1000 opg présente un niveau de parasitisme modéré, entre 1000 et 2000 opg, élevé et supérieur à 2000 opg très élevé. Lorsque le parasitisme est élevé un traitement doit-être mis en place ne serait-ce que pour limiter la contamination des pâtures. Quant à la gamme d'excrétion d'œufs entre 500 et 1000 opg, il convient de prendre en compte les facteurs zootechniques, l'état des animaux et la conduite d'élevage. (Jacquie, 2016)

5.1.2 La coproculture

La coproculture permet d'obtenir, à partir des œufs se trouvant dans les matières fécales, les larves au stade infestant.

Les prélèvements de matières fécales se font dans les mêmes conditions que les examens coproscopiques. Un mélange de matières fécales de plusieurs individus (3 à 5 grammes par individu) est mis à l'étuve dans un pot pendant 10 jours.

Dans les conditions naturelles, le développement des L3 nécessite des conditions de température et d'humidité spécifiques pour chaque espèce de SGI. On comprend donc que, dans le cadre de poly-parasitisme, le développement de certaines espèces sera favorisé pour un couple température/humidité fixé. Dans notre cas, la température de l'étuve est fixée entre 22 et 25°C. L'oxygénation est apportée par brassage et l'humidification est contrôlée tous les 2-3 jours et ajustée à l'aide d'une pissette d'eau.

Dix jours après le début de la culture, les larves sont extraites selon la méthode MAFF (MAFF, 1986). Le pot est sorti de l'étuve et rempli d'eau jusqu'au

bord. Une boîte de Pétri est apposée à l'envers sur le pot, puis l'ensemble est retourné sur la table. La boîte de Pétri est alors remplie d'eau au deux tiers de sa hauteur. En 24 heures environ, les larves L3 vont s'extraire de la gangue fécale et, attirées par la lumière, vont migrer dans le liquide contenu dans la boîte de Pétri. Les larves L3 sont alors récoltées dans un tube à essai par aspiration du liquide présent dans la boîte de Pétri, à l'aide d'une pipette.

L'étape la plus délicate est l'observation des larves, même pour des spécialistes en helminthologie. Le tube contenant les larves est centrifugé à 4500 tours par minutes pendant 10 minutes. Le surnageant est retiré du tube et le culot du tube concentrant les L3 concentrées peut alors être analysé. Un couple température/humidité ayant été fixé, les larves obtenues ne peuvent être analysées quantitativement mais seulement qualitativement.

Genre	Longueur totale (µm) et aspect de la queue de la gaine	Nombre et aspect des cellules intestinales	Aspect de l'extrémité antérieure	Autres éléments morphologiques
<i>Haemonchus</i>	750-850 moyenne, pointue ; décalée	16, assez nettes	⊙	⊙
<i>Teladorsagia</i>	700-850 courte, pointue	16, assez nettes	carrée	Queue de la larve arrondie
<i>Trichostrongylus</i>	700 courte, pointue	16, assez nettes	aplatie et rétrécie	Queue de la larve arrondie avec 1 ou 2 tubérosités

Tableau 2 : Eléments de diagnose des larves L3 pour observation au microscope (Lefèvre et al., 2003)

5.1.3 Mise en évidence de l'ADN du parasite par des outils moléculaires

De nouvelles méthodes permettant le diagnostic des strongyloses sont actuellement développées dans le but de s'affranchir des méthodes diagnostiques

conventionnelles et de leurs limites : faible sensibilité et spécificité, importance de l'expérience de l'opérateur pour l'identification des larves, manipulations chronophages, etc. Les méthodes actuelles basées sur l'amplification enzymatique de séquences d'ADN, comme la PCR (Polymerase Chain Reaction), constituent une avancée majeure dans le diagnostic des strongyloses et la mise en évidence des résistances aux anthelminthiques.

La méthode PCR permet l'amplification spécifique *in vitro* d'un segment particulier d'ADN à partir d'un mélange de séquences. Le but est d'obtenir des millions de copies d'un fragment d'ADN à partir d'une séquence unique. Pour se faire, l'ADN recherché doit d'abord être extrait ; de nombreux kits d'extraction d'ADN sont disponibles sur le marché et minutieusement détaillés dans leur utilisation.

Tout d'abord, l'ADN est dénaturé c'est à dire qu'il y a une séparation des brins d'ADN de la double hélice. Des amorces spécifiques de la séquence d'ADN ciblée sont nécessaires et vont s'hybrider de part et d'autre de la séquence cible pour permettre à partir de ceux-ci, une élongation des brins d'ADN à l'aide d'une enzyme à activité ADN polymérase. Ce cycle est ensuite répété plusieurs dizaines de fois et chaque nouveau double brin formé sert de matrice par la suite : l'amplification de la séquence d'ADN visée est donc exponentielle. Grâce à cette méthode, de très faibles quantités d'ADN initiales pourront être détectées. Néanmoins, la méthode classique est seulement qualitative.

La PCR quantitative (qPCR) ou autrement appelée PCR en temps réel, est une adaptation de la PCR classique qui permet de suivre l'intensité de l'amplification de l'ADN en temps réel à l'aide de fluorescence. La technologie TaqMan est la plus connue : une sonde spécifique complémentaire appelée TaqMan est ajoutée au mélange et est spécifique d'une séquence interne entre les deux amorces. Un fluorochrome ou reporter est fixé à son extrémité 5' et un désactivateur ou quencher est fixé à son extrémité 3'. Avant le début de l'élongation, la sonde est intacte, le quencher absorbe la fluorescence du reporter. Mais lors de la polymérisation, l'ADN polymérase hydrolyse la sonde et, grâce à son activité exonucléase, sépare le quencher et le reporter. La fluorescence n'est alors plus absorbée.

Tout le long de la manipulation, l'intensité de la fluorescence émise est directement proportionnelle à la quantité d'ADN formée. La quantité d'ADN présent initialement dans l'échantillon pourra être déterminée à l'aide d'une gamme-étalon.

La PCR permet, dans le cas de l'étude des strongyloses digestives, d'identifier les espèces présentes dans les fèces même en très faible quantité et de s'affranchir de la coproculture suivie de l'identification des larves sous microscope qui est chronophage. La séquence ciblée est le gène ITS-2 de l'ARNr, car cette région du génome présente une très faible variabilité intra-spécifique et une forte variabilité interspécifique. Une étude de 2011 a montré la fiabilité de la méthode : en testant 517 échantillons de fèces d'ovins, ils ont obtenus une spécificité de 100% et une sensibilité de 98% (Roeber et al., 2011). Le seuil de détection est également plus bas que les méthodes de coproscopies classiques qui détectent au minimum 15 opg contre 1 seul œuf par gramme de fèces avec la qPCR. Il est possible également à partir d'un seul échantillon fécal, d'identifier à la fois les trois genres de SGI (*Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Teladorsagia*) mais aussi d'évaluer l'intensité d'excrétion d'œufs de chacun d'entre eux et donc d'en estimer les proportions. Moins dépendante de l'expérience de l'opérateur, plus rapide que la coproculture, cette méthode est prometteuse mais n'est encore accessible qu'aux laboratoires spécialisés et reste tout de même plus coûteuse que la coproculture. (Jacquiet, Canellas, et al., 2014). De plus, il faut s'assurer que l'extraction d'ADN directement à partir des matières fécales ne va pas entraîner des inhibitions de PCR car des inhibiteurs de PCR (sels biliaires par exemple) sont présents en grande quantité dans les fèces.

5.1.4 L'autopsie

Les vers adultes d'*H. contortus* sont facilement visibles à l'autopsie dans la caillette. Les vers adultes de *T. circumcincta* sont plus difficilement discernables et ceux de *T. colubriformis* non visibles à l'œil nu. Les différentes lésions observables lors de strongyloses sont détaillées Partie 1, 2.

Des diagnostics post-mortem sont parfois effectués afin de déterminer les espèces et le nombre de strongles présents dans le tractus digestif de l'animal. Cela implique l'ouverture et le lavage des différentes sections de l'appareil digestif et

parfois l'ajout d'un traitement chimique afin de déloger les larves en migration dans les muqueuses. Le comptage des vers totaux est rarement effectué en routine car c'est un travail long et fastidieux mais il peut être intéressant lors d'infestations expérimentales.

5.2 Mesure des effets du parasitisme sur l'hôte

Les effets du parasitisme chez l'hôte peuvent être évalués en routine par l'éleveur à l'aide d'indicateurs zootechniques et cliniques.

5.2.1 La note d'état corporel

La note d'état corporel peut être établie grâce à la palpation de la zone dorso-lombaire. Les notes peuvent aller de 1 (brebis très maigre) à 5 (brebis obèse). Des dispositifs de pesée automatique se développent en élevage et permettent un suivi régulier du poids des brebis ou des agneaux. La variation du gain moyen quotidien (GMQ) chez des agnelles peut-être un indicateur utile dans la prise de décision de la réalisation d'un traitement anthelminthique. En effet, il semblerait que les animaux ayant un fort GMQ et un index de souillure faible (voir paragraphe ci-dessous) peuvent former un lot d'animaux à ne pas traiter. Une étude a ainsi montré qu'il n'existait aucune différence significative sur le poids des animaux et de l'infestation parasitaire à la fin de saison de pâture entre un lot non traité établi sur les critères précédents et des animaux traités (Stafford et al., 2009). Une baisse de poids chez des adultes doit alerter et conduire à un dépistage des SGI. Toutefois, la perte de poids et la NEC ne sont pas spécifiques aux SGI et peuvent subvenir lors de nombreuses pathologies.

5.2.2 Index de souillure de l'arrière-train par de la diarrhée

Un index de souillure de l'arrière-train permet de noter les brebis de 0 (pas de souillures) à 5 (arrière-train extrêmement souillé). L'utilisation de ce score repose sur le postulat que les notes sont d'autant plus élevées que le parasitisme digestif est

important et peut-être utilisé dans une approche de traitement sélectif ciblé. (Larsen et al., 1995)

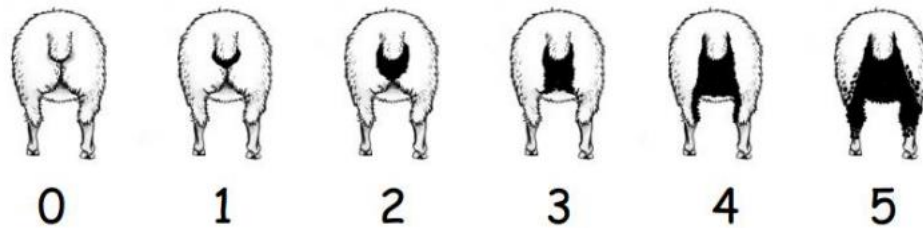


Figure 6 : Index de souillure de l'arrière-train (Bonnefont, Canellas, 2014)

Il existe également un score de consistance des fèces évalué au moment du prélèvement, DISCO, qui a montré son efficacité en tant que signe d'appel de strongyloses digestives mais n'est pas souvent utilisé sur le terrain. (Bentounsi et al., 2012)

5.2.3 La méthode FAMACHA®

Cette méthode consiste à identifier, en utilisant des critères cliniques d'anémie, les animaux parasités par *Haemonchus contortus*. En effet, il est connu qu'une haemonchose, à ses différents stades, provoque un changement de couleur de la muqueuse conjonctivale, allant du rouge au blanc, en passant par plusieurs teintes de roses, en réponse à l'anémie provoquée par ces strongles.

Cette méthode développée en Afrique de Sud a été validée sur d'autres continents notamment aux Etats-Unis et est aujourd'hui utilisée dans de nombreuses régions à climat chaud et humide. (Kaplan et al., 2004) Elle permet d'instaurer des traitements sélectifs et entre dans un projet global de lutte contre la résistance aux anthelminthiques. Il est conseillé de ne traiter que les animaux de classes 3 à 5 (la grille contenant 5 classes) soit anémiés à très anémiés. (van Wyk, FBath, 2002)

Bien que cette méthode ait été validée par de nombreuses études et semble facilement réalisable par les opérateurs, elle reste peu sensible. L'indice Famacha® étant supérieur à 3 lorsque les animaux présentent un hématokrite déjà bien inférieur à 20%. De plus, elle manque de spécificité : d'autres causes d'anémies existent chez

le mouton, notamment la fasciolose, pour laquelle il a été montré que la méthode Famacha® était prometteuse dans son diagnostic. (Olah et al., 2015)

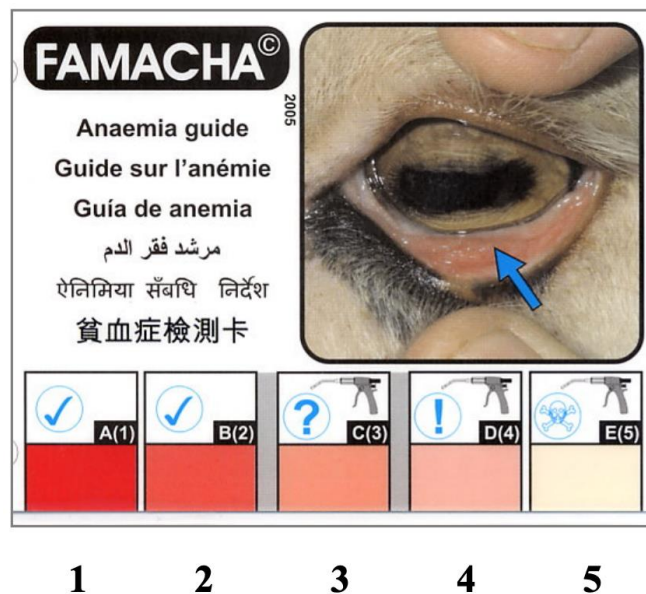


Figure 7 : La carte FAMACHA®

5.2.4 Le dosage du pepsinogène sanguin

Le pepsinogène est une pro-enzyme sécrétée par les cellules du fundus de la caillette. Il est converti en pepsine, sa forme active, grâce à l'acide chlorhydrique produit par les glandes de la caillette. Comme vu précédemment, la présence de strongles modifie le pH abomasal, ce qui empêche la transformation du pepsinogène en pepsine, qui s'accumule alors dans le sang. Une augmentation de la concentration sanguine en pepsinogène pourrait donc être révélatrice d'une strongylose notamment par *Haemonchus contortus* et *Teladorsagia circumcincta*. (Urquhart et al., 1996) Des agneaux infestés expérimentalement par *H. contortus* présentent des concentrations en pepsinogène plasmatique 2,5 à 3 fois plus élevée 15 jours après l'infestation mais cette augmentation n'est que transitoire et le pepsinogène retrouve sa valeur basale 25 à 30 jours après le début de l'infestation. Cela s'explique par la migration des larves L4 dans la muqueuse de la caillette ; une fois les vers au stade adulte, la concentration en pepsinogène retrouve une valeur normale.

Cette méthode a été peu étudiée chez les ovins comparativement aux bovins, et ne donne d'indication que sur les parasites de la caillette. (Jacquiet, Canellas, et al., 2014)

5.3 Mesure de réponse de l'hôte face aux parasites

Comme chaque réponse du système immunitaire à un élément étranger, les infestations par les SGI entraînent une production d'anticorps qui peuvent-être circulants ou locaux. Afin de réduire la fréquence des traitements anthelminthiques (responsable de l'émergence de strongles résistants, voir Partie 2), des recherches ont été menées afin de sélectionner les animaux naturellement résistants aux SGI.

L'antigène CarLA présent chez toutes les larves L3 des Trichostrongylidae est un antigène cible des anticorps de l'hôte. Les anticorps anti-CarLA sont dosables dans la salive des hôtes. Le taux d'anticorps serait négativement corrélé à l'intensité d'excrétion d'œufs ce qui laisse supposer que les animaux les plus résistants présenteraient des valeurs élevées en ELISA. (Shaw et al., 2012)

De même, des taux élevés d'IgG1 et d'IgA sont corrélés négativement avec les intensités d'excrétions d'œufs dans les infestations par *H. contortus*. (Jacquiet, Canellas, et al., 2014).

6 La lutte chimique contre les SGI : anthelminthiques

Il existe 6 familles d'anthelminthiques commercialisés dans le monde en élevage ovin, dont 5 sont disponibles en France. (Jacquiet, Fidelle, et al., 2014a)

La première famille, et la plus ancienne, est celle des Benzimidazoles (BZ). Le principal mode d'action des BZ est d'inhiber la formation de microtubules, la molécule à activité stronglycicide formant une liaison avec la β -tubuline du nématode. Cette famille comprend le fenbendazole, l'oxfendazole, le mébendazole (associé au closantel), l'albendazole, et le nétobimin.

La famille des Imidazothiazoles (IDZ) est celle du lévamisole. Il agit en se fixant de manière pérenne aux récepteurs de l'acétylcholine, c'est un agoniste cholinergique.

La famille des Salicylanilides (SAL) agit par inhibition de la phosphorylation oxydative. Elle comprend le closantel et le nitroxylin.

La quatrième famille de molécules à activité strongylicide est celle des lactones macrocycliques (LM). Elle se divise en deux sous familles : les avermectines (avec l'ivermectine, la doramectine, et l'éprinomectine) et les milbémécines (avec la moxidectine). Leur mode d'action est commun : il y a fixation sur les récepteurs au glutamate des canaux chlore des synapses neuromusculaires ce qui provoque la paralysie puis la mort du nématode.

La cinquième famille disponible en France est celle des dérivés d'acétonitriles (AADs) avec le monépantel. C'est la dernière molécule mise sur le marché en France. Ce sont également des agonistes cholinergiques mais n'agissant pas sur les mêmes récepteurs que le lévamisole.

Enfin, la dernière famille, non disponible en France, est celle des spiroindoles (SPI), antagonistes cholinergiques et comprend le derquantel.

La voie d'administration, la posologie, le spectre d'activité ainsi que les restrictions d'utilisation des différentes molécules disponibles en France sont résumés dans les tableaux 3a, 3b.

Molécule	Voie d'administration et posologie	Spectre d'activité et rémanence	Restrictions femelles gestantes et en lactation
Fenbendazole	Voie orale – 5 mg/kg	SGI*, <i>Dictyocaulus filaria</i> , <i>Moniezia expansa</i> (à 10 mg/kg) Pas de rémanence	Délai d'attente lait : 8,5 jours Pas d'embryotoxicité à cette posologie
Oxfendazole	Voie orale – 5 mg/kg	SGI, <i>Dictyocaulus filaria</i> , <i>Moniezia expansa</i> Pas de rémanence	Délai d'attente lait : 8 jours Pas d'embryotoxicité à cette posologie
Mébendazole (associé au closantel)	Voie orale – 15 mg/kg (10 mg/kg)	SGI (adultes, L4), <i>Dictyocaulus filaria</i> , <i>Moniezia expansa</i> , <i>Fasciola hepatica</i> , <i>Æstrus ovis</i> Rémanence de 5 semaines (closantel)	Association interdite en lactation et au tarissement et un an avant le 1 ^{er} agnelage
Albendazole	Voie orale ① 3,8 mg/kg ② 7,5 mg/kg ③ 15 mg/kg	① SGI, <i>Dictyocaulus filaria</i> , <i>Moniezia expansa</i> ② idem + <i>Fasciola hepatica</i> ③ idem + <i>Fasciola hepatica</i> , <i>Dicrocoelium lanceolatum</i> Pas de rémanence	Interdit en lactation. Pas dans le 1 ^{er} tiers de gestation
Nétobimin	Voie orale ① 7,5 mg/kg ② 20 mg/kg	① SGI, <i>Dictyocaulus filaria</i> ② SGI, <i>Dictocaulus filaria</i> , <i>Moniezia expansa</i> , <i>Fasciola hepatica</i> , <i>Dicrocoelium lanceolatum</i> Pas de rémanence	Délai d'attente lait : 5 jours. Pas dans le 1 ^{er} tiers de gestation
Lévamisole	Voie intra-musculaire – 7,5 mg/kg Voie Orale – 7,5 mg/kg	SGI (adultes) Pas de rémanence	Interdit en lactation, au tarissement et un an avant le 1 ^{er} agnelage

Tableau 3 (a) : Anthelminthiques disponibles chez les ovins en France ; (Jacquiet, Fidelle, et al., 2014a ; Molina et al., 2008 ; Kiki-Mvouaka, 2009 ; Veillet, 2001 ; Atta, Abo-Shihada, 2000)

Molécule	Voie d'administration et posologie	Spectre d'activité et rémanence	Restrictions femelles gestantes et en lactation
Closantel	Voie orale ou sous-cutanée - 10 mg/kg	SGI hématophages (adultes, L4), <i>Fasciola hepatica</i> (Adultes + larves), <i>Œstrus ovis</i> Rémanence de 4 semaines.	Interdit en lactation, au tarissement et un an avant le 1 ^{er} agnelage
Nitroxylin	Voie sous-cutanée - 10mg/kg	SGI hématophages (adultes, L4), <i>Fasciola hepatica</i> (Adultes + larves), <i>Œstrus ovis</i> Rémanence 60 jours***	Interdit en lactation, au tarissement et un an avant le 1 ^{er} agnelage
Ivermectine	① Voie orale ② Voie sous-cutanée 0,2 mg/kg	① SGI, <i>Dictyocaulus filaria</i> <i>Œstrus ovis</i> ② Idem + <i>Psoroptes ovis</i> , <i>Sarcoptes scabiei</i> , <i>Melophagus ovinus</i> Pas de rémanence par voie orale, 6 jours	Interdit en lactation, au tarissement, et ① 28 jours / ② 21 jours - avant le 1 ^{er} agnelage
Doramectine	Voie intra-musculaire - 0,2 mg/kg	SGI, <i>Dictyocaulus filaria</i> , <i>Œstrus ovis</i> , <i>Psoroptes ovis</i> Rémanence 6,5 jours**	Interdit en lactation, au tarissement, et 70 jours avant le 1 ^{er} agnelage
Eprinomectine	Pour on - 1 mg/kg	SGI (adultes), <i>Dictyocaulus filaria</i> Rémanence de 10 à 17 jours	Délai d'attente lait : 0 jour Sécurité sur les femelles en gestation non étudiée
Moxidectine	① Voie orale - 0,2 mg/kg ② Voie sous-cutanée - 0,2 mg/kg ③ Voie sous-cutanée longue action - 1 mg/kg	① SGI, <i>Dictyocaulus filaria</i> ②③ SGI, <i>Dictyocaulus filaria</i> , <i>Œstrus ovis</i> , <i>Psoroptes ovis</i> ①② Rémanence 2 semaines pour <i>Trichostrongylus</i> , 5 semaines pour <i>Teladorsagia</i> et <i>Haemonchus</i> ③ Rémanence de 111, 97 et 44 jours pour <i>Haemonchus</i> ., <i>Teladorsagia</i> ., <i>Trichostrongylus</i> .	① Délai d'attente lait : 5 jours ② Interdit chez les femelles laitières en lactation, les agnelles gestantes et les brebis tarées 60 jours avant l'agnelage ③ Interdits chez les brebis laitières à tous stades de leur vie
Monépanтел	Voie orale - 2,5 mg/kg	SGI Pas de rémanence	Interdit chez les brebis laitières à tous les stades de leur vie

*SGI : sous-entend tous les stades de strongles gastro-intestinaux (adultes, L4 et larves inhibées) ** étude menée avec injection en sous-cutanée

Tableau3 (b) : Anthelminthiques disponibles chez les ovins en France ; (Jacquet, Fidelle, et al., 2014a ; Molina et al., 2008 ; Kiki-Mvouaka, 2009 ; Veillet, 2001 ; Atta, Abo-Shihada, 2000) *** (Riviere, Papich, 2017)

PARTIE 2 :
LA RESISTANCE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX
OVINS AUX ANTHELMINTHIQUES

1 Notion de résistance aux anthelminthiques en élevage ovin

1.1 *Etat des lieux de la résistance dans le monde et en France*

Le recours aux anthelminthiques dans le contrôle de la population parasitaire au sein des élevages est aujourd'hui systématique. Largement utilisés dans le monde, ils permettent de manière simple de maîtriser le cycle du parasite. Ils limitent ainsi les pathologies ovines associées aux strongles gastro-intestinaux.

Cependant, l'utilisation massive de cette classe de médicament a inévitablement mené à la sélection d'individus résistants à l'anthelminthique utilisé, déjà préexistants au sein de la population parasitaire. Ainsi, à travers le monde, dans les grands bassins ovins, de plus en plus de résistances aux différentes familles de molécules sont apparues. Ces résistances ont été décrites dans les 6 familles de molécules couramment utilisées.

Une définition a été proposée par l'OMS en 1957 : « la chimiorésistance est l'apparition dans une population de la faculté de tolérer des substances toxiques à des doses qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale dans la même espèce ». Cette définition a été revue en 2012 en introduisant la notion d'héritabilité (Abbott et al., 2012). Ainsi, on considère qu'un parasite est résistant si il n'est pas éliminé par la dose d'anthelminthique recommandée par le fabricant du produit et si cette capacité de résistance est transmissible à sa descendance.

1.1.1 A travers le monde

Chaque lancement d'une nouvelle molécule a inévitablement mené à la description de cas de résistance quelques années après sa commercialisation, en moyenne dans les 7 ans après la mise sur le marché. Ces cas de résistances ont été rapportés dans toutes les régions du monde, chez les 3 espèces majeures de strongles des petits ruminants : *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis*. Ces espèces ont développé des mécanismes de résistance à toutes les familles de molécules à l'heure actuelle, avec une situation davantage inquiétante pour *Haemonchus contortus*.

Les premiers pays à avoir cherché et mis en évidence des populations de parasites chimiorésistants sont les pays de l'hémisphère sud comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande ou l'Afrique du Sud.

Pendant longtemps, seule la résistance aux BZ a été observée, jusqu'à la fin des années 80, où les premières résistances aux LM (ivermectine principalement) sont apparues (Kotze, Prichard, 2016). Cette résistance concernait essentiellement les espèces ovines *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus sp.* et *Teladorsagia sp.*, puis s'est étendue à la plupart des espèces de nématodes des ruminants.

Il s'en est immanquablement suivi l'apparition de multirésistances, c'est-à-dire une résistance portée à l'encontre de plusieurs familles de molécules notamment les 3 principales (BZ, IDZ, LM). Les premiers cas ont été décrits dans les pays de l'hémisphère sud (Australie, Nouvelle-Zélande, Afrique du sud, Amérique du sud), puis les multi-résistances ont également émergé en Europe, notamment aux Royaume-Uni et en Irlande au début des années 2000.

Famille d'anthelminthique	Molécule	Commercialisation	Premiers cas de résistance	Pays
Benzimidazoles	Thiabendazole	1961	1964	Etats-Unis
	Fenbendazole	1971	1975	Afrique du Sud
	Albendazole	1979	1979	Australie
	Oxfendazole	1975	1979	Australie
	Mebendazole	1971	1975	Afrique du Sud
Salicylanilides	Closantel	1977-1981	1982	Afrique du Sud
Imidazothiazoles	Lévamisole	1965	1981	Australie
Lactones macrocycliques	Ivermectine	1981	1987	Afrique du Sud
	Abamectine	1985	2001	Australie
	Moxidectine	1992	2001	Nouvelle-Zélande
	Doramectine	1993	2001	Etats-Unis
	Eprinomectine	1996	2009	Suisse
Dérivés d'amino-acétonitrile	Monepantel	2009-2010	2013	Nouvelle-Zélande

Tableau 4 : Historique de l'apparition de résistances en élevage ovin dans le monde (Kotze, Prichard, 2016)

Au Brésil, de nombreuses résistances ont été démontrées à travers le pays notamment dans la région du Sud limitrophe avec l'Uruguay où 97% des élevages de

cette région présenteraient au moins une résistance à l'un des antiparasitaires présents sur le marché dont 90% pour l'albendazole (BZ) et 84% pour le lévamisole (IDZ). De plus, tous les élevages testés dans une étude de 2017 ont présenté au moins une résistance à 3 familles de molécules, montrant l'importance grandissante des résistances multiples. Enfin, 18% des élevages testés ont développé également une résistance au monépantel (AADs), 3 ans seulement après la mise sur le marché de ce nouvel anthelminthique. (Cintra et al., 2016 ; De Oliveira et al., 2017).

En Australie la situation est tout aussi préoccupante, où 85 % des exploitations présentaient déjà des résistances aux BZ et au lévamisole (IDZ) dans les années 90 (Overend et al., 1994). Depuis, les multirésistances incluant les LM se sont généralisées et les premières résistances aux plus récentes molécules, le monépantel (AADs) et le derquantel (SPI), ont été décrites (Sales, Love, 2016). La situation est la même en Nouvelle-Zélande et en Afrique du Sud.

1.1.2 En Europe

En Europe, les résistances aux BZ et au lévamisole (IDZ) sont bien présentes dans tous les pays producteurs d'ovins. De nombreux cas de résistance ont été décrits au Royaume-Uni, en Irlande du Nord, en Grèce, en France, en Espagne, etc. Une étude menée en 2014 sur 30 élevages en France, en Grèce et en Italie a montré des résistances simples ou multiples au lévamisole (IDZ) et aux BZ dans les 3 pays. Plus alarmant encore, un élevage grec présentait une multirésistance aux LM et aux deux familles précédentes (Geurden et al., 2014a).

La situation est tout aussi alarmante au Royaume-Uni où des cas de triple-résistances aux principales familles anthelminthiques sont de plus en plus rapportés (Abbott et al., 2012).

Aux Pays-Bas, jusqu'en 2007, aucune résistance aux anthelminthiques autre que les BZ n'avait été rapportée avant l'apparition de résistances avérées à la doramectine (LM) et à l'ivermectine (LM) dans plusieurs exploitations entre 2007 et 2010, puis suivis par la moxidectine (LM) en 2013 et même le monépantel (AADs) en 2015. Une étude publiée en 2018, a montré des prévalences élevées de résistance dans les élevages participants. Dans la majeure partie des cas *H. contortus* était mis en cause dans la résistance aux BZD et LM. De plus, la multirésistance est de plus

en plus observée, avec quasiment un élevage sur deux qui présente au moins une résistance à 2 familles de molécules (Ploeger, Everts, 2018).

1.1.3 En France

En France métropolitaine, les études portant sur l'évaluation de la résistance des SGI en élevage ovin étaient assez rares jusqu'aux années 2000, où une poignée d'études ont mis en évidence des résistances notamment aux BZ dans le Val de Loire, le Limousin, la région lyonnaise et les Deux-Sèvres (voir Tableau 5). Dans ce dernier département, en 1993-1994, des populations de nématodes gastro-intestinaux (*Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis*) ont été mises en évidence comme résistantes aux BZ et au lévamisole (IZD), respectivement dans 80% et 50% des élevages ovins étudiés.

Plus récemment en 2014, deux études, en Aveyron et dans les Pyrénées-Atlantiques et pour la première fois en élevage ovin laitier, ont confirmé l'importance de la résistance aux BZ dans le paysage français, au point de devoir proscrire ces molécules dans les élevages concernés. Même si la prévalence est de 100% dans les élevages testés, elle n'est pas à généraliser à tous les élevages français, car les études ont été réalisées dans des élevages à très forte suspicion de résistance, non représentative de la situation globale en France (Geurden et al., 2014 ; Jacquiet et al., 2014).

La même année, la première résistance double aux LM a été observée dans la Loire. Dans cet élevage, une diminution de l'efficacité de l'ivermectine (LM) et de la moxidectine (LM) a été constatée et confirmée par une infestation expérimentale. L'espèce parasitaire mise en cause était *Teladorsagia circumcincta* (Paraud et al., 2014).

En 2017, une étude réalisée dans la Corrèze a mis en évidence une résistance multiple aux BZ et à l'ivermectine chez l'un des quatre élevages testés ainsi qu'une suspicion de résistance à la moxidectine (LM) dans un autre élevage (Eichstadt, 2017). En 2018, une résistance à l'ivermectine (LM) et aux BZ a été trouvée dans un troupeau transhumant dans les Pyrénées où *Haemonchus contortus* a été décrit comme espèce responsable (Cazajous et al., 2018). Ces observations confirment l'avancement de la résistance aux LM dans les différentes régions de France.

Ainsi, l'évaluation de la résistance dans le paysage français est en cours. La résistance aux BZ, bien présente dans les élevages français, pose un réel problème pour les éleveurs laitiers qui se retrouvent alors démunis, ne laissant plus que l'éprinomectine (LM) comme traitement contre les SGI. Pour le moment, les LM semblent encore efficaces dans la plupart des élevages français, mais étant donné les premières apparitions de résistance, il semble primordial, pour assurer la filière ovine, de reconsidérer nos pratiques de traitements. Les prochaines années vont être décisives dans la mise en place de nouvelles stratégies de lutte contre les SGI, afin de limiter au maximum le développement de résistance et ainsi ne pas reproduire le schéma alarmant connu dans d'autres régions du monde.

Région	Benzimidazole	Lévamisole	Lactones macrocycliques	Références
Val de Loire	2/18	1/18	Non étudiée	(Kerboeuf et al., 1988)
Limousin	10/20	Non étudiée	Non étudiée	(Hubert et al., 1992)
Lyonnais	2/7	Non étudiée	Non étudiée	(Beugnet et al., 1992)
Deux Sèvres	19/23	9/18	0/21	(Chartier et al., 1998)
Aveyron	5/5	Non étudiée	0/5	(Geurden et al., 2014a)
Pyrénées Atlantiques	5/5	Non étudiée	0/5	
Loire	Non étudiée	Non étudiée	1/1	(Paraud et al., 2014)
Corrèze	3/4	Non étudiée	1/4	(Milhes et al., 2017)
Pyrénées	1/1	0/1	1/1	(Cazajous et al., 2018)

Tableau 5 : Fréquence de la résistance des SGI dans les élevages ovins en France selon la région et le type d'anthelminthique (nombre d'élevages avec résistance / nombre total d'élevages dans l'enquête) (adapté de Jacquet et al., 2014)

1.2 Conséquences de l'augmentation de la résistance

L'apparition puis la propagation de la résistance dans un élevage peuvent avoir plusieurs types de conséquences (Jacquet et al., 2014) :

- La réduction de l'arsenal thérapeutique permettant de lutter efficacement contre les strongyloses gastro-intestinales, limitant les rotations de familles de molécules et favorisant l'acquisition de résistance d'autant plus rapidement.
- Une diminution des performances zootechniques, la moindre valorisation des animaux et le coût des traitements inefficaces entraînant des pertes économiques indirectes et directes pour les éleveurs.
- L'altération du bien-être animal, devant être pris en compte de plus en plus face à l'opinion publique.
- À terme la survie de l'élevage, où la maîtrise des SGI multirésistants devient économiquement non viable voire impossible, comme en témoigne des exemples au Royaume Uni ou en Afrique du Sud où certains éleveurs ont été contraints d'arrêter leur activité ovine (Cabaret, 2012).

2 Les mécanismes de résistance et les facteurs favorisant son expansion

2.1 Apparition et sélection de la résistance

La résistance est initialement présente chez quelques individus de la population d'helminthes. Cette dernière provient de mutations aléatoires du génome permettant l'apparition d'allèles conférant une résistance aux anthelminthiques (phénomènes pré-adaptatif). Ceci est à distinguer des vers qui présentent naturellement une non-sensibilité à l'égard d'un anthelminthique (= cette espèce parasite se situe en dehors du spectre d'action de la molécule).

En dehors de toute pression de sélection engendrée par l'utilisation des anthelminthiques, ce caractère de résistance ne profère a priori aucun avantage à l'helminthe qui en est porteur, même si peu de données sont disponibles sur le *fitness* des vers résistants. La fréquence des gènes de résistance reste faible dans une proportion qui varie selon les populations non soumises à sélection. Cependant lorsque que l'on exerce une pression de sélection par une utilisation de l'anthelminthique, la fréquence allélique des gènes de résistance va augmenter dans la population. En effet, la majeure partie des individus sensibles est éliminée et les individus résistants, se reproduisant davantage, transmettent les allèles à la descendance. Ces allèles voient leurs fréquences augmentées dans les générations

successives de parasites, au fur et à mesure de la répétition des traitements (Chartier et al., 2015).

De plus, la sélection du caractère de résistance dépend en partie de la génétique de la résistance. Une résistance multigénique comparativement à une résistance monogénique aura tendance à se développer moins rapidement au sein de la population, car la probabilité qu'un individu possède à un instant déterminé tous les allèles nécessaires à la résistance est d'autant plus faible que le nombre d'allèles impliqués est grand. Parallèlement, suivant le degré de dominance de l'allèle ou des allèles mis en cause, la propagation de la résistance au sein de la population d'helminthes est plus ou moins rapide. En effet, un caractère de résistance résultant de l'expression d'un allèle dominant sera visible plus rapidement dans la descendance que s'il était exprimé par un allèle récessif (Chartier et al., 2015 ; Eichstadt, 2017).

Dans le cas d'une résistance exprimée par un allèle récessif et monogénique (r), l'évolution du génotype en contexte favorable dans une population d'helminthes est présentée dans la figure suivante.

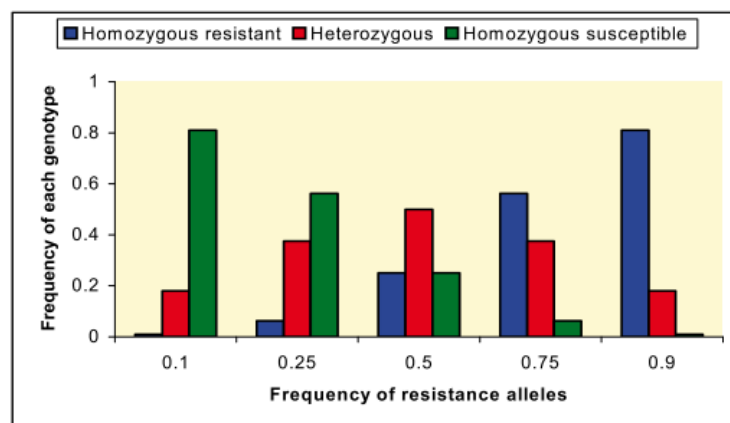


Figure 8 : Génotype en fonction de la fréquence de l'allèle de résistance dans une population

Ainsi lorsque la fréquence de l'allèle de résistance (r) est faible dans la population, l'allèle (r) se trouve majoritairement à l'état hétérozygote (rS) dans la population. Au fur et à mesure que l'on sélectionne l'allèle de résistance avec le traitement, la part d'homozygotie résistante (rr) augmente au sein de la population. Par exemple, pour une fréquence allélique (r) égale à 25%, cet allèle se trouve à 40% à l'état hétérozygote non résistant (rS) et à 5% à l'état homozygote résistant (rr). Si la

fréquence allélique dans la population augmente jusqu'à 75%, la situation change drastiquement avec un génotype homozygote résistant (rr) majoritaire à 55%. A partir de 20% d'homozygotie résistant (rr), la résistance au sein de l'élevage devient cliniquement visible, on parle alors de résistance phénotypique. Cette observation est très tardive car cela signifie qu'il y a plus de 50% d'allèles de résistance dans l'helminthofaune, d'où l'importance de la mise en œuvre d'outils de diagnostic précoce dans le dépistage de la résistance en élevage (Abbott et al., 2012).

2.2 Les mécanismes moléculaires de la résistance

2.2.1 Mécanismes non-spécifiques

Ces mécanismes ont pour but de limiter l'accès des molécules anthelminthiques à leurs cibles d'action par l'intermédiaire (Jacquiet et al., 2014) :

- D'une surexpression des gènes de certaines P-glycoprotéines (P-gP), appartenant à la superfamille des récepteurs ABC, qui agissent comme pompe à efflux des molécules anthelminthiques. Les P-glycoprotéines sont localisées de manière significative dans le tube digestif et sont exprimées à des taux élevés dans les membranes des cellules intestinales et pharyngées, lieux d'action des LM (Smith, Prichard, 2006).
- D'une désactivation possible, notamment par le cytochrome P450.
- D'une réduction de l'exposition des neurones sensoriels aux anthelminthiques par une modification structurale de ces neurones lors du développement.

Les deux premiers mécanismes ont largement été décrits dans l'acquisition de la résistance aux BZ. Aujourd'hui nous savons qu'ils jouent un rôle mineur et qu'ils peuvent expliquer une part limitée de la résistance observée à cette famille de molécules comparativement aux mécanismes spécifiques mis en jeu.

A contrario, une grande partie de la résistance aux LM proviendrait de l'action des P-glycoprotéines (P-gP) par leur rôle de pompes à efflux. Chez *T. circumcincta* résistant à l'ivermectine (LM), un degré élevé de polymorphisme ainsi qu'une expression accrue des ARNm correspondant aux gènes codant pour une P-gP, la Tc-Pgp-9, ont été observés et pourraient expliquer la résistance. En outre, lors de

l'utilisation d'un inhibiteur des P-gP ou lorsque leur expression est rendue silencieuse chez des individus mutés, l'ivermectine (LM) entraîne rapidement la mort du parasite, même chez des individus initialement résistants. Ainsi l'utilisation *in vitro* de vérapamil, un inhibiteur de P-gP, a permis de neutraliser temporairement le statut résistant des individus, montrant l'importance de ce mécanisme dans l'acquisition de la résistance (Demeler et al., 2013 ; Kotze, Prichard, 2016).

2.2.2 Mécanismes spécifiques

Les mécanismes spécifiques font intervenir des mutations modifiant les cibles des anthelminthiques et leurs actions.

Lorsque les molécules utilisées possèdent le même mode d'action, l'acquisition de la résistance se fait pour l'ensemble de la famille (notion de famille de molécules). Ceci est à nuancer pour les LM. Par exemple, la résistance acquise contre l'ivermectine (LM) pourra ne pas s'étendre à la moxidectine (LM) ou dans une moindre mesure, témoin de mécanismes différents de résistance.

De plus, il est possible qu'une population de vers soit résistante à plusieurs familles de molécules, on parle dans ce cas d'une multirésistance. Il est très important de visualiser la résistance à l'échelle de la population d'helminthes et non de l'individu. En effet, il est très peu probable, dans un premier temps, que le parasite puisse résister à deux familles de molécules mais il est davantage probable que deux parasites distincts résistent à des familles de molécules différentes. Cependant si un parasite devient résistant à plusieurs familles de molécules, cette résistance provient d'une accumulation au cours du temps d'allèles résistants. Il ne s'agit pas d'une résistance croisée où un seul allèle de résistance pourrait conférer une résistance à plusieurs familles de molécules.

Les mécanismes sont encore très mal connus pour la plupart et varient en fonction de la famille de molécules, de l'espèce d'helminthe mise en cause, voire même de la souche collectée.

- **Famille des benzimidazoles et pro-benzimidazoles :**

La résistance aux BZ est la mieux connue : elle est associée à des mutations dans les gènes de la β -tubuline qui empêchent la liaison des principes actifs. La première mutation décrite est située sur le codon 200 (remplacement d'une

phénylalanine par une tyrosine) de l'isotype 1 de la β -tubuline et a souvent été considérée comme la mutation la plus importante (Kwa et al., 1994). L'homozygotie de cette mutation est une condition suffisante pour l'acquisition de la résistance chez *Haemonchus contortus* conférant un effet on/off à la résistance (Köhler, 2001). Cependant, dans des souches résistantes mais non mutées au niveau du codon 200, un autre polymorphisme en position 198 a été mis en évidence dans 90% des cas, pouvant expliquer une autre part importante de la résistance (Ghisi et al., 2007). Un troisième polymorphisme, au codon 167 toujours de l'isotype 1 de la β -tubuline, a également été détecté dans des populations d'*Haemonchus contortus* résistantes aux BZ mais ne serait pas une condition suffisante pour l'acquisition d'une résistance forte aux BZ. Ces trois polymorphismes devraient être inclus dans les programmes de recherche de résistance d'*Haemonchus contortus* aux BZ.

De plus, les polymorphismes des codons 167 et 200 peuvent également exister dans les gènes de l'isotype 2 de la β -tubuline d'*Haemonchus contortus* où ils pourraient aussi conférer une résistance aux BZ sans en connaître réellement leurs implications (Prichard, 2001) .

Il semblerait aussi que ces mutations soient présentes chez *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis*, quoi qu'avec des mécanismes génétiques différents. En effet, là où il est nécessaire pour *Haemonchus contortus* d'avoir un état homozygote résistant à l'un des deux codons 200 ou 198 pour résister aux BZ, pour *Teladorsagia circumcincta* l'hétérozygotie ou l'homozygotie pour le codon 167 seul, suffirait pour résister au traitement. Ainsi, la génétique de la résistance aux BZ entre ces deux espèces de parasite est différente. La mutation au codon 167 pour *Teladorsagia circumcincta* semble donc dominante (Silvestre, Cabaret, 2002).

- **Famille des imidazothiazoles :**

Les molécules de cette famille sont des agonistes cholinergiques agissant sur les synapses neuromusculaires des nématodes. L'ouverture permanente de la synapse, entraînée par la fixation de l'antiparasitaire sur les récepteurs, déclenche la contraction généralisée des cellules musculaires traduisant une paralysie spastique du vers. Le mécanisme génétique de l'acquisition de la résistance est encore mal connu. Cependant, il a été montré chez *Oesophagostomum dentatum*, un proche cousin des nématodes ovins, que les individus résistants présentent une

sensibilisation moins importante au lévamisole (IDZ). En effet, chez ces individus, la fixation du lévamisole (IDZ) sur ses récepteurs entraîne une dépolarisation moins importante des jonctions neuromusculaires. Cette désensibilisation pourrait provenir de modifications des propriétés du canal, par une variation des sous-types de récepteurs entre les populations sensibles et résistantes. Cette variation pourrait être expliquée par l'expression différente de la sous-unité β codée au moins par 2 gènes (équivalent à Unc-29 et Lev-1 trouvés chez *Caenorhabditis elegans*, (Fleming et al., 1997)) chez les vers résistants, réduisant ainsi la sensibilité au lévamisole (IDZ) par une ouverture et un temps plus réduits du canal. Cette base moléculaire de la résistance semble concorder avec les observations de la résistance chez *Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis* (Robertson et al., 2018).

- **Famille des salicylanilides :**

Le mécanisme est encore très mal connu chez les SGI des ovins. Des pistes ont été trouvées chez *Fasciola hepatica* résistant au closantel mais ne font pas l'unanimité dans la communauté scientifique (Miller et al., 1994 ; Farahnak et al., 2007).

- **Famille des lactones macrocycliques :**

Les lactones macrocycliques agissent au niveau des récepteurs au glutamate des canaux Cl^- , ainsi qu'aux récepteurs au GABA. Ces canaux, de constitution proches, possèdent 5 sous-unités, notamment α et β , où le glutamate vient se fixer sur la sous-unité α , tandis que les sous-unités β contiennent le site de liaison à l'ivermectine (Martin et al., 1997). Ces 2 canaux semblent être impliqués dans la résistance à cette famille de molécule (Gilleard, 2006). Des modifications dans les fréquences alléliques codant pour les sous-unités de ces canaux dans les différentes populations de parasites *Haemonchus contortus* ont été observées, cependant la mutation d'un seul allèle n'est pas corrélée à l'apparition de la résistance (Blackhall et al., 1998 ; 2003). Chez *C. elegans*, une mutation multigénique de 3 gènes est requise pour développer une résistance élevée à l'ivermectine. Ces gènes codent pour la sous-unité α du canal Cl^- sensible au glutamate. Pour le moment, les données observées semblent indiquer que la résistance pourrait provenir plutôt d'une modification du récepteur au glutamate des canaux chlorures que du site de liaison à l'ivermectine. Ceci suggère que d'autres mutations sont nécessaires pour empêcher

la liaison de la molécule sur son site d'action et donc l'origine multigénique de la résistance.

Les mécanismes non spécifiques semblent jouer un rôle tout aussi important voire plus important dans la résistance aux LM chez les nématodes parasites.

- **Famille des dérivés d'amino-acétonitrile :**

Le médicament cible une sous-unité protéique des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, récepteur appartenant à la sous-famille des DEG-3 spécifique aux nématodes et différent du récepteur du lévamisole. Le mécanisme de résistance est encore mal connu chez la plupart des espèces de strongles. Cependant, chez *Haemonchus contortus*, une grande partie des individus résistants présentent des mutations SNP (protéine tronquée, anomalie de structures primaires, etc.), sur le gène Hco-MPTL-1 codant pour la sous-unité visée empêchant la fixation du monépantel, rendant ainsi les larves moins sensibles à cette molécule. De nombreuses séquences de type sauvages ou « sensibles » ont été retrouvées dans la population résistante, suggérant qu'il existe une présence significative d'hétérozygotes et donc qu'au moins certaines des mutations peuvent être dominantes, expliquant la rapidité d'apparition de la résistance dans le monde (Bagnall et al., 2017).

3 Les facteurs favorisant la sélection et la transmission de la résistance

De nombreux facteurs favorisent l'apparition, la propagation et la transmission de la résistance au sein d'une population de nématodes parasites. Ces facteurs dépendent en particulier de la conduite d'élevage mais sont aussi en partie inhérents à la biologie des strongles gastro-intestinaux. Ces derniers sont difficilement maîtrisables mais ils doivent être pris en compte dans la stratégie de lutte contre la résistance en élevage. Pour déterminer cette stratégie, il est nécessaire de bien identifier ces facteurs de risque pour pouvoir mettre en place des mesures de prévention adaptées à chaque élevage.

3.1 Les facteurs biologiques intrinsèques au nématode

- **Cycle biologique :**

Les strongles ont un cycle biologique très court d'environ 4 semaines lors de périodes climatiques favorables (chaud et humide). Cette rapidité et l'absence de larves en hypobiose lors d'un climat clément, favorise la transmission des gènes de résistance au sein de la population (Wolstenholme et al., 2004).

- **Prolificité :**

Chez une espèce à forte prolificité comme *Haemonchus contortus*, la vitesse d'apparition et de transmission d'allèles de résistance se fait d'autant plus rapidement au sein de la population que la descendance d'une seule femelle résistante est élevée.

- **Pathogénicité :**

Une espèce très pathogène se verra davantage soumise à une pression de sélection élevée par la répétition des traitements anthelminthiques du fait de l'importance des signes cliniques.

- **Spécificité d'hôtes :**

Plus les espèces concernées sont spécifiques d'un hôte, plus la diffusion de la résistance est rapide. En effet, lorsqu'un parasite possède plusieurs hôtes définitifs ou des hôtes intermédiaires, ces derniers peuvent servir de refuge pour les vers sensibles, d'autant plus qu'ils ne sont pas soumis à une pression de sélection (animaux sauvages comme les Cervidés.)

La haute prolificité, la pathogénie et, ces dernières années le climat doux, sont d'autant de facteurs biologiques favorables à *Haemonchus contortus* pouvant expliquer en partie l'apparition et la dissémination rapide de résistance chez cette espèce (Kotze, Prichard, 2016).

3.2 Les facteurs extrinsèques liés à la conduite d'élevage

- **La gestion du pâturage :**

L'introduction d'animaux naïfs sur une pâture contaminée par des strongles résistants permet une infestation de ces animaux par des parasites résistants. Cela peut être le cas lors de la sortie des jeunes agnelles nées durant l'hiver sur la pâture accompagnées des adultes, au printemps.

Le pâturage en commun, notamment lors des transhumances ou de partage de prairie, est un facteur aggravant favorisant la transmission inter-cheptel de résistance et des cas de multirésistance (Lawrence et al., 2006 ; Cazajous et al., 2018).

- **La fréquence d'utilisation d'un anthelminthique :**

La fréquence d'utilisation d'un anthelminthique est le facteur le plus important mis en évidence dans l'émergence des résistances (Leathwick, Besier, 2014). Plus la fréquence est élevée, plus la pression de sélection est forte entraînant une apparition et une expansion rapide de la résistance. Un facteur de corrélation positif a été mis en évidence entre l'intensité de résistance et la fréquence des traitements anthelminthiques (Barton, 1983 ; Falzon et al., 2015). Un traitement réalisé toutes les 3 semaines, correspondant à la période prépatente, représente la pression de sélection la plus élevée, car seuls les parasites résistants peuvent se développer. En effet, tous les œufs excrétés proviennent d'individus ayant résisté au traitement, la contamination des pâtures ne se faisant alors qu'avec des larves L3 exclusivement résistantes. Ce schéma thérapeutique peut être utilisé lorsqu'il y a une volonté d'assainir totalement une pâture (Torres-Acosta, Hoste, 2008).

- **Le sous-dosage :**

Le sous-dosage a longtemps été décrit comme une cause majeure de sélection de souches résistantes en élevage ovin. Cependant, plusieurs auteurs remettent en cause ce facteur.

Le sous-dosage est considéré comme l'application d'une dose inférieure à celle recommandée par le laboratoire producteur. La dose dépend de la molécule, de la voie d'application, de l'espèce considérée et du parasite à traiter. Le sous-dosage

peut provenir d'une mauvaise évaluation du poids des animaux (sous-estimation), d'une erreur de calcul de dose, d'une erreur technique (pistolet drogueur mal calibré, régurgitation du produit, etc.) ou d'une mauvaise extrapolation d'une espèce à l'autre (notamment ovin vers caprin).

Pour comprendre l'effet du sous-dosage sur la sélection d'allèles de résistance, il faut revenir à la génétique. Le sous-dosage n'aura que très peu d'effet sur les individus homozygotes résistants (rr), qui sont résistants même à une dose normale d'antiparasitaire. En revanche, il est susceptible de permettre la survie des individus hétérozygotes (Sr), seuls les homozygotes sensibles étant éliminés. Cette survie va entraîner une reproduction des hétérozygotes qui vont produire des hétérozygotes à nouveau mais surtout des individus homozygotes résistants (rr). Ainsi, lors d'utilisation à répétition d'un traitement sous-dosé, on favorise l'apparition d'individus résistants et la propagation de l'allèle de résistance au sein de la population d'helminthe dans l'élevage (Abbott et al., 2012). En revanche, lors de sous-dosage très important, le traitement n'éliminant seulement que quelques individus sensibles (SS), aucune sélection ne serait à rapporter.

Cependant, selon certains auteurs, suivant le contexte, le sous-dosage n'a aucun rôle dans la sélection de résistance. Ainsi, un individu hétérozygote avec un allèle de résistance récessif n'a aucune résistance face à un antiparasitaire sous-dosé. Ainsi pour la famille des BZ, le rôle du sous-dosage serait inexistant dans la dissémination de cette résistance. En revanche, pour une résistance multigénique ou lorsque plusieurs mécanismes interviennent, notamment les LM (mécanismes spécifiques et non spécifiques), les individus ne possédant qu'une partie des allèles de résistance pourraient survivre à des doses faibles et transmettre ces allèles par la suite (Cabaret, 2012).

- **Les antiparasitaires rémanents et la voie d'administration :**

Ces médicaments ont une longue durée d'action soit en raison d'une caractéristique innée de la molécule (par exemple, la moxidectine (LM) qui présente une plus grande lipophilie) soit en raison de la voie d'administration (libération lente à partir du point d'injection, dispositifs intra-ruminaux). Ces procédés permettent de faciliter et de diminuer le nombre de manipulations nécessaires au déparasitage.

Cependant au fur et à mesure que la concentration d'anthelminthique diminue à des concentrations sublétales, les parasites résistants homozygotes et

hétérozygotes sont capables de s'établir et de se reproduire, tandis que les homozygotes sensibles ne peuvent toujours pas se développer (I. A. Sutherland, Scott, 2010). Ce mécanisme favorise l'expansion des allèles de résistance et une pression de sélection pendant plusieurs semaines. Une association positive a été trouvée entre l'emploi de formulation longue action et la résistance aux anthelminthiques (Falzon et al., 2014).

De plus il a été montré, notamment pour les LM où le développement des applications 'pour-on' a été la plus importante, une variabilité des paramètres pharmacocinétiques de la molécule en fonction de sa voie d'administration. Cette variabilité soulève la question de leur efficacité et d'un éventuel impact sur l'émergence de résistance (Jacquiet, 2015). La pharmacocinétique de la molécule en application 'pour-on' ou en voie injectable sous-cutanée dépendrait notamment de l'état d'embonpoint de l'animal et de la note d'état corporel. Il a été montré chez des agneaux, à posologie identique et trois jours après administration, que la concentration en ivermectine (LM) étaient 50 fois supérieures dans la muqueuse abomasale et 15 fois supérieures dans les larves d'*Haemonchus contortus* chez les animaux traités avec la forme orale comparé à ceux traités avec la forme injectable sous-cutanée (Lloberas et al., 2012). Cette concentration moindre d'anthelminthiques inhérente à l'utilisation de la voie injectable pourrait engendrer un phénomène de « sous-dosage » et entraîner les conséquences vues dans le paragraphe précédent.

- **L'introduction de nouveaux individus dans le cheptel :**

L'achat et l'introduction de nouveaux individus dans un cheptel sont des facteurs de risque importants quant à l'introduction de vers résistants. Il a été montré dans les régions à forte prévalence de résistance, que le risque d'introduction de résistance dans un cheptel est majoré. C'est notamment le cas pour les BZ où le risque est très élevé en Europe mais bien moindre pour le moment pour les LM (Jacquiet, 2015).

- **Traitements contre d'autres parasites :**

Les traitements contre les trématodes ou la gale ovine (*Psoroptes ovis*) utilisent des familles de molécules à large spectre comme les BZ, les

salicylanilides ou les LM. Ces traitements favorisent aussi la sélection d'allèles de résistance chez les SGI (Torres-Acosta, Hoste, 2008).

4 Les stratégies de traitement des strongyloses gastro-intestinales

La résistance, une fois installée dans une population d'helminthes, est irréversible. Il n'y a pas de retour possible à un état sensible de la population d'helminthes. Il a été montré l'absence de réversion de la résistance aux BZ après 6 années sans traitement avec cette famille de molécules chez *Haemonchus contortus* (Borgsteede, Duyn, 1989). Il est primordial de mettre en évidence le plus précocement possible les résistances au sein de l'élevage afin de mettre en place des stratégies pour ralentir son développement.

4.1 La notion de refuge

La notion de zone de « refuge » a été introduite au début des années 2000. Elle se définit comme la population parasitaire qui n'est pas exposée à l'anthelminthique lors d'un traitement donné. Elle est composée principalement des formes immatures sur les zones de pâtures, des parasites adultes chez les animaux non traités et des larves en hypobiose dans le tube digestif lorsqu'elles ne font pas parties du spectre d'action de la molécule (Chartier et al., 2015).

Les stades larvaires au pâturage représentent une population non soumise à la pression de sélection par les traitements. Ces stades larvaires vont avoir un rôle de dilution vis-à-vis des parasites survivants au traitement chez l'animal. Il est donc important de garder une population refuge ou sensible la plus conséquente possible pour diluer au maximum l'allèle de résistance au sein de la population de strongles gastro-intestinaux. En conséquence, lorsque l'on prend en compte cette notion lors d'un traitement antiparasitaire, la pression de sélection sur les vers sera d'autant moins importante que la population refuge est grande. Ainsi, un traitement réalisé sur tout le troupeau avant la mise à l'herbe au printemps lorsque les larves transhivernantes sont peu nombreuses, va présenter un risque accru par une diminution forte de la zone de refuge.

La prise en compte de cette population refuge et de la gestion du pâturage peut constituer une approche complémentaire aux anthelminthiques dans le contrôle des nématodes gastro-intestinaux. Celle-ci favorise une utilisation limitée des antiparasitaires afin de prévenir toute résistance ou tout au moins de la ralentir en diminuant au maximum la pression de sélection.

4.2 Stratégie de traitement ciblé et sélectif

La sur-dispersion des populations d'helminthes, où 80 à 90% des parasites sont présents chez une faible part des individus du troupeau, est un phénomène commun à tous les SGI. Cette sur-dispersion doit avoir une grande importance dans la conception des stratégies de lutte afin que l'intervention thérapeutique soit la plus ciblée possible dans le temps, et limitée aux seuls animaux qui en ont besoin, dans le but de diminuer au maximum la pression de sélection. En effet, nous savons que certains individus sont capables de maintenir un niveau de production élevé en dépit d'une forte infestation, ce phénomène s'appelle la résilience. La résilience varie de manière individuelle et doit être prise en compte dans la stratégie de lutte.

Il est nécessaire d'évaluer les périodes à risque, en tenant compte du niveau de contamination des parcelles en larves infestantes (saison, température, humidité, etc.), de l'abondance parasitaire dans la population hôte et de la sensibilité de chaque type d'individus (1^{ère} mise à l'herbe, réforme, lactation, etc.). Une évaluation de la charge parasitaire du troupeau peut être approchée par la réalisation de coproscopies individuelles ou de mélange. On sait aujourd'hui que ces deux méthodes sont très bien corrélées et que la seconde revient moins chère à l'éleveur. A partir du seuil que l'on se fixe, généralement supérieur à 500 opg, on peut envisager le traitement du lot concerné (Jacquie, 2015), en dessous de ce seuil, on conseille à l'éleveur de ne pas traiter et de réaliser une nouvelle coprologie quelques semaines ou quelques mois plus tard.

Ce fonctionnement permet de traiter les animaux les plus excréteurs et de limiter la contamination des pâtures tout en sauvegardant des zones refuges chez les autres individus. En effet, cela évite le problème du traitement collectif dans laquelle les zones refuges sont réduites à leurs minimums notamment lors de la mise à l'herbe au printemps ou de la rentrée en étable.

Une autre stratégie qui peut être appliquée parallèlement, mais qui est plus difficile à mettre en place, notamment dans les gros cheptels, est de réaliser un traitement sélectif individuel en fonction de la résilience de l'animal. Il s'agit de traiter les animaux qui sont les plus sensibles où le pouvoir pathogène du parasite est le plus visible. De nombreux facteurs interviennent comme la charge parasitaire, l'espèce parasitaire, le statut nutritionnel ou immunitaire, la race, le génotype, etc. Nous savons que les données coprologiques sont difficilement corrélables à l'état clinique de l'animal car elles dépendent de la résilience de l'individu et des espèces de strongles mises en jeu.

Cependant des indicateurs cliniques existent et peuvent refléter le degré de résilience. Comme il a été décrit dans la première partie, l'index Famacha® est fortement corrélé à l'hématocrite (beaucoup plus que les opg) et peut être un très bon reflet de l'infestation par *Haemonchus contortus* dans un contexte épidémiologique favorable à ce parasite. Dans le cadre d'un polyparasitisme où *Haemonchus contortus* serait mineur, cet index n'a que très peu de valeur diagnostique (Scheuerle et al., 2010). Dans les zones ou lors des périodes les moins favorables à *Haemonchus contortus*, l'index de diarrhée (DISCO) ainsi que l'index de souillure de l'arrière-train (Dagscore) sont relativement bien corrélés aux strongyloses digestives lors d'infestation légère et touchant plutôt l'intestin grêle. Cependant ces marqueurs peuvent se révéler trop tardifs avec des pertes de production déjà conséquentes et sont très peu corrélables à l'intensité d'excrétion d'œufs dans les fèces car peuvent être secondaire à d'autres facteurs comme une herbe riche en azote, à une coccidiose, etc. Tous ces index sont à associer entre eux, ainsi qu'avec des indicateurs de production comme le GMQ, la NEC ou la production laitière, pour traiter aux meilleurs moments et avoir le moins d'effets négatifs sur les zones de refuge (Jacquiet, 2015).

4.3 Utilisation optimale et raisonnée des anthelminthiques

Il faut diminuer les pratiques à risque et faire un choix raisonné des anthelminthiques. Pour cela, il est nécessaire de (Eichstadt, 2017):

- diminuer la fréquence et l'impact des traitements tout en promouvant l'acquisition de l'immunité en réalisant des traitements ciblés et sélectifs (voir paragraphe ci-dessus),

- limiter au maximum le sous-dosage en tenant compte des conseils d'utilisation donnés par le laboratoire (posologie, voie d'administration, stockage, date de péremption, mis à jeun, etc.) et en évaluant correctement le poids de l'animal le plus lourd du lot à traiter,

- en réalisant une rotation des différentes familles de molécules en incluant les nouvelles mises sur le marché. Cette rotation permet d'éviter une pression de sélection qui ne s'exercerait que sur une seule famille. Elle doit être effectuée à chaque traitement et en tenant compte de l'épidémiologie des parasites (Abbott et al., 2012).

- en utilisant des combinaisons d'anthelminthiques aux modes d'action distincts qui se montrent plus efficaces pour ralentir l'apparition de résistance, qu'une alternance de deux familles, notamment lorsque la fréquence des allèles de résistance est encore faible pour les familles de molécules concernées (Cabaret, 2012 ; Abbott et al., 2012).

Cependant, la combinaison d'anthelminthiques est à nuancer notamment pour l'utilisation concomitante de BZ et de LM. Une étude de 2017 a montré que l'Ivermectine (LM) augmente significativement la prévalence de l'allèle résistant du codon 200 de l'isotype 1 de la β -tubuline responsable de la résistance à la famille des BZ chez *Haemonchus contortus*. Ainsi, l'acquisition de la résistance aux BZ ne se fait pas seulement par l'utilisation de cette famille mais aussi par l'utilisation des LM. La réciproque n'a cependant pas été démontrée. Ainsi l'utilisation concomitante des BZ et des LM favoriserait doublement la sélection de résistance aux BZ (Santos et al., 2017).

4.4 Mesures de quarantaine suite à l'introduction d'animaux

Les SGI résistants peuvent être importés dans l'élevage par l'introduction de nouveaux animaux (béliers reproducteurs, agnelles de renouvellement, etc.). Pour limiter ce risque, ces animaux introduits doivent être placés en quarantaine, associée à un traitement combinant plusieurs familles d'antiparasitaires. Il est conseillé de les

traiter avec une combinaison de molécules encore non utilisée dans l'élevage ou avec une famille ayant le risque de résistance le moins élevé dans la région (une combinaison monépanтел (AADs)/moxidectine (LM) peut être envisagée). Ce traitement permet d'éliminer les allèles de résistance provenant de l'élevage d'origine. La quarantaine doit s'étaler durant au moins 48 heures, le temps que les œufs produits par les parasites avant traitement soient totalement évacués dans les fèces et ne viennent contaminer les pâtures ; 99% des œufs sont éliminés dans les 48 heures post-traitement. Par la suite, les animaux doivent être introduits sur des pâtures déjà contaminées par des œufs et des larves de l'élevage afin de diluer les allèles de résistance qui auraient pu survivre au traitement administré lors de la quarantaine (Abbott et al., 2012).

5 L'importance de la gestion du pâturage dans la lutte contre la résistance

Même si l'objectif premier de la gestion du pâturage est de nourrir les animaux, elle permet aussi d'assurer une qualité hygiénique des pâtures vis-à-vis des strongles. Si la gestion est bien menée elle peut éviter au maximum les recontaminations massives et donc limiter la mise en place de traitements anthelminthiques. De plus le contrôle du niveau parasitaire des pâtures permet de favoriser l'acquisition d'une certaine immunité notamment pour les jeunes lors de leurs premières sorties.

Ainsi la gestion du pâturage a pour objectif de réduire la densité larvaire, en s'appuyant sur des mesures préventives et défensives dans le temps et l'espace. Pour y parvenir, plusieurs stratégies sont à envisager notamment (Hoste, Torres-Acosta, 2011) :

- une stratégie préventive en présentant les animaux sur des parcelles propres,
- une stratégie d'évasion en effectuant des rotations de pâtures.
- une stratégie de dilution en réduisant le chargement par parcelle ou en faisant pâturer des espèces différentes.

5.1 Les stratégies préventives

Cette stratégie s'appuie principalement sur l'utilisation de parcelles propres ou saines. Cette notion sous-entend que les parcelles ont un niveau d'infestation très faible voir quasiment nul. Elle est particulièrement utile pour la mise en pâture des animaux vulnérables (animaux jeunes, non immunisés). En effet, outre que ces individus sont les plus à même de subir les conséquences directes du parasitisme, ils augmentent considérablement la charge parasitaire de la pâture avec un taux d'excrétion fécale élevé.

Ces parcelles peuvent être des nouvelles parcelles sur lesquelles aucun ruminant n'a jamais pâturé auparavant ou des parcelles qui ont subi un assainissement au cours des derniers mois. Pour y parvenir, il est possible de les mettre au repos selon un temps plus ou moins long ou de réaliser un traitement d'assainissement. Le temps de repos doit être au minimum de 6 mois, mais il peut être prolongé jusqu'à un an. En effet, sous nos climats tempérés il n'est pas rare que des larves L3 résistent sur les pâtures pendant au moins 8 mois. Cependant, cette mise au repos dépend en grande majorité du climat et des espèces à considérer dans l'infestation de la pâture. Ainsi il est plus simple d'assainir une pâture lorsqu'*Haemonchus contortus* est l'espèce majoritaire étant donné que cette espèce a un taux de survie d'environ 4 à 6 semaines. Pour assainir les pâtures il est aussi possible de labourer les parcelles et de les ensemercer afin d'obtenir une quantité résiduelle quasi nulle.

Le pâturage alterné est un autre moyen de contrôle du niveau parasitaire de la parcelle. Il consiste à faire pâture alternativement au cours des saisons, plusieurs espèces de ruminants. Il est possible d'alterner ainsi bovins et ovins au cours d'une même saison tous les 2 à 6 mois ou tous les ans. Les nématodes ayant une spécificité d'hôtes relativement étroite, cette pratique permet de créer des culs de sac épidémiologiques pour certains parasites et de limiter leur développement. Le pâturage alterné permettrait de diminuer la charge parasitaire des ovins de l'ordre de 70%. (Hoste, Guitard, Pons 2003).

5.2 Les stratégies d'évasion

Le principe d'évasion est de changer de parcelle avant que celle-ci ne présente une charge de L3 trop importante, ou d'assainir la parcelle avant d'y revenir. Le déplacement se fait généralement au milieu de l'été, avant le pic saisonnier de L3 issues du développement des œufs déposés dans la première partie de pâturage (Chartier, Camuset, 2012).

Une autre pratique consiste à réaliser une rotation de parcelles au cours de la saison de pâture. Le principe est d'assainir les parcelles pour revenir sur un faible niveau d'infestation (Torres-Acosta, Hoste, 2008). Cette rotation se fait de manière rapide avec un retour sur parcelle toutes les 4 à 6 semaines pour une exploitation de la parcelle d'environ 1 semaine. En pratiquant de la sorte, on évite la réinfestation massive des animaux et on optimise sur le plan agronomique la repousse de l'herbe et donc sa capacité de charge. Cependant, la survie des larves L3 est dépendante de l'espèce en jeu et des conditions climatiques. Avec une durée de vie de l'ordre de 4 à 6 semaines, *Haemonchus contortus* se prête volontiers à cette pratique. Cependant, pour les espèces où la durée de vie est beaucoup plus longue, la quantité résiduelle sur la parcelle après le retour du troupeau est beaucoup trop importante pour observer le moindre bénéfice au niveau parasitaire. Ainsi la rotation de pâture ne montre qu'un intérêt très limité sous notre climat tempéré dans le contrôle des strongyloses, mais doit être conçu pour tirer le meilleur parti des ressources fourragères de la parcelle afin d'optimiser la productivité et la santé des animaux (Hoste, Torres-Acosta, 2011). En revanche, dans les régions tropicales et subtropicales, il semblerait possible à l'heure actuelle de réduire considérablement l'utilisation des anthelminthiques de synthèse par l'application de cette méthode (Chartier, Camuset, 2012).

5.3 La stratégie de dilution

Elle consiste à réduire le contact entre les animaux et les larves infestantes par une diminution du chargement ou par la pratique du pâturage mixte.

En effet, il a été montré que l'infestation parasitaire du cheptel est d'autant plus élevée que le nombre d'individus sur la même parcelle est grande (Torres-

Acosta, Hoste, 2008). Lorsque la densité est trop élevée, le surpâturage entraîne les animaux à consommer l'herbe proche des bouses et à favoriser l'ingestion de larves qui s'y retrouvent en quantité importante. Ainsi, on observe une augmentation de la contamination et de l'ingestion des larves. Cependant, il existe une limite économique à des chargements trop faibles et une absence de relation de proportionnalité entre chargement et infestation parasitaire. En effet, il n'y a pas de valeur connue du chargement maximal pour lequel la résultante parasitaire serait acceptable en terme subclinique ou clinique. Il est donc nécessaire de trouver un équilibre entre le chargement des pâtures et le parasitisme, dépendant largement du type de production et des conditions environnementales spécifiques à chaque exploitation (Hoste, Torres-Acosta, 2011).

Pour limiter le surpâturage il est possible de découper la parcelle en sous-unités, en autorisant l'accès aux brebis à une sous-unité seulement chaque jour. On parle de pâturage cellulaire. En se retrouvant dans une nouvelle partie de la parcelle chaque jour, le surpâturage et la consommation d'herbe à proximité des zones de rejet sont limités. En outre la repousse de l'herbe est favorisée. Cette méthode demande cependant une charge de travail supplémentaire conséquente (Jacquiet et al., 2018).

Le pâturage mixte représente une approche dans la stratégie de dilution. Il est possible de faire pâturer simultanément des animaux d'espèces différentes ou de la même espèce mais faiblement contaminateur. Comme le pâturage alterné, les différents individus d'une espèce hôte en particulier représentent des culs de sac épidémiologiques pour les larves des autres espèces hôtes, favorisant une diminution de l'infestation et des signes cliniques. A priori, cette technique a un effet positif davantage prononcé chez les ovins lors d'une association bovins/ovins. Il est dans ce cas nécessaire d'assurer un certain ratio, 4 à 5 brebis par vache, pour assurer un pâturage équilibré entre les individus et une diminution de la charge parasitaire chez les ovins (Chartier, Camuset, 2012). Dans une moindre mesure, le mélange d'individus de la même espèce mais d'âges différents peut être intéressant dans le contrôle des strongyloses. Les individus les plus âgés gagnant une certaine immunité vis-à-vis des SGI avec le temps, représentent une source de contamination moins importante pour les jeunes. Mais ce phénomène est à modérer notamment lors du *periparturient rise* où les niveaux d'excrétion augmentent de façon importante de par une réduction de l'immunité (Eichstadt, 2017).

5.4 Gestion de pâturage et traitement anthelminthique : lutte intégrée

La gestion du pâturage suffit rarement à réaliser une maîtrise satisfaisante des strongyloses ovines. Elle permet seulement de limiter les infestations et de recourir à une utilisation raisonnée des anthelminthiques. Leurs utilisations combinées font partie d'un programme de lutte intégrée dans la gestion du parasitisme en élevage.

Pendant longtemps, le système « dose and move » a été pratiqué. Il consiste à assainir le troupeau à l'aide d'anthelminthique avant son entrée sur une nouvelle parcelle. Cette pratique est facile à mettre en œuvre et favorise une réinfestation très faible de la nouvelle pâture. Malheureusement, cette méthode réduit de façon draconienne la population refuge favorisant ainsi l'apparition de résistance (Chartier, Camuset, 2012)

Une autre alternative consiste à réaliser le traitement à la suite du déplacement, on parle de « move and treat ». En traitant les animaux quelques jours après leur arrivée sur la nouvelle pâture, on assure une contamination de la parcelle avec des parasites sensibles non sélectionnés (augmentation de la population refuge) diminuant l'impact du traitement. En réduisant la pression de sélection, on limite ainsi l'apparition de résistance. Ce schéma peut être amélioré en associant ce traitement avec une stratégie de lutte ciblée et sélective en réalisant des coprologies de mélange, en observant les indicateurs de production, etc. (Abbott et al., 2012).

6 Les alternatives au traitement chimique

6.1 Par L'acquisition d'une immunité contre les parasites

6.1.1 La vaccination

Parce qu'une immunité partielle se met en place contre les SGI chez les animaux suite à la première saison de pâturage, l'élaboration de vaccins a été envisagée dans le but d'améliorer l'immunité. Il n'existe à ce jour qu'un seul vaccin, largement utilisé en Australie, ciblant uniquement *Haemonchus contortus*. BarberVax ND, est un vaccin à « antigènes cachés » c'est-à-dire issu de protéines qui ne sont naturellement pas en contact avec l'hôte car dans ce cas précis, présentes dans les

cellules de l'intestin des nématodes. Suite à la vaccination, de grande quantité d'anticorps ciblant ces protéines sont produits par l'hôte, que le parasite va ingérer au moment de son repas sanguin. Ce vaccin n'est commercialisé qu'en Australie.

D'autres vaccins utilisant des antigènes recombinants sont actuellement au stade de recherche et se basent sur le principe de l'immunisation naturelle (Elena Gonzá lez-Sánchez et al., 2018).

6.1.2 La sélection génétique d'ovins naturellement résistants

Dans un effectif de ruminants au pâturage, la distribution des SGI est agrégée c'est à dire qu'un petit nombre d'individus du troupeau hébergent une grande proportion de la population totale de parasites. Ceci est dû à un effet du hasard lors de l'ingestion de larves infestantes, mais aussi d'une variation individuelle de la résistance aux strongles.

Un individu résistant est capable de réguler l'installation, le développement, la fécondité et la survie des SGI. Ceci ne doit pas être confondu avec la résilience qui définit la capacité d'un individu à maintenir son niveau de production en dépit des infestations par les SGI. De nombreux facteurs modulent la résistance de chaque individu aux SGI : la race, l'âge, le statut physiologique, la qualité de l'alimentation mais également les aptitudes génétiques.

Deux grands types de méthodes existent pour évaluer la résistance d'un individu : l'utilisation du phénotype ou du génotype.

Il est possible de mettre en évidence un phénotype résistant chez les ovins, à l'aide de l'intensité d'excrétion d'œufs ou la mesure d'une réponse anticorps. Cette méthode est efficace mais lourde à réaliser sur de très grands effectifs. En revanche cibler la sélection sur les béliers destinés à l'insémination artificielle ou à la monte naturelle dans les centres d'élevages de jeunes mâles, permet d'effectuer une sélection à l'échelle d'une race. Aujourd'hui, plusieurs races font l'objet de cette sélection ce qui donne une envergure nationale à ce projet (Jacquiet et al., 2009).

La seconde méthode consiste à obtenir une information moléculaire qui va prédire le caractère « résistant » ou « sensible » de l'individu. La résistance aux SGI chez les ovins est multigénique ce qui complique cette approche. De plus, quand certains marqueurs génétiques sont identifiés dans une race, ils sont le plus souvent inutilisables dans une autre race. (Jacquiet, 2012).

6.2 *Par l'utilisation de plantes contenant naturellement des molécules anthelminthiques : les tannins*

Les premières molécules anthelminthiques chimiques de synthèse datent des années 1950 et l'émergence de résistance associée a été mise en évidence seulement une décennie plus tard. L'utilisation des substances naturelles de plantes pour traiter les animaux semble donc être une alternative dans l'air du temps. Certaines légumineuses fourragères pourraient être utilisées dans l'alimentation pour leurs propriétés antiparasitaires, mais cela se limite pour le moment à quelques sites de recherche. Ces végétaux sont considérés comme bioactifs car ils sont riches en tannins condensés qui ont des propriétés anthelminthiques. Le mode d'action des tannins sur les nématodes demeure mal connu mais deux principaux effets ont été mis en évidence. On observe d'une part un effet sur la contamination du milieu extérieur en éléments infestants : une diminution significative d'excrétion fécale d'œufs dans l'environnement chez les animaux consommant des fourrages riches en tannins. D'autre part, les tannins provoqueraient des perturbations sévères de la biologie des larves infestantes entraînant des réductions de succès d'installation des larves L3 de l'ordre de 50 à 70% (Hoste et al., 2012).

6.3 *En Augmentant la résilience naturelle de l'hôte*

Comme décrit dans la Partie 1, l'une des conséquences des strongyloses digestives est une modification du métabolisme menant à des carences nutritionnelles et notamment protéiniques. Il a été montré que lever ces carences en protéines pourrait augmenter la résilience des animaux infestés et limiterait le phénomène de *perparturient rise*. Une supplémentation en protéines pourrait être intéressante chez les animaux à risque, mais les quantités à fournir ne sont pas encore établies à l'heure actuelle (Hoste, Torres-Acosta, 2011).

6.4 *En favorisant l'élimination des stades libres dans les fèces*

Duddingtonia flagrans est l'espèce de champignon nématophage la plus étudiée. Ses spores sont capables de survivre au passage du tractus digestif de

nombreux ruminants, puis colonisent les fèces de l'hôte, pour y donner des hyphes qui exercent une activité de prédation sur les larves L3 avant qu'elles ne quittent les fèces. Pour se faire, la sporulation dans les fèces forme un réseau tridimensionnel qui piège les stades libres dans l'environnement. *D. flagrans* permet donc de réduire la quantité de larves infestantes issues des œufs contenus dans les fèces colonisés par le champignon. Des résultats prometteurs ont été trouvés au Brésil et en Argentine. Cette méthode est intéressante car n'a pas montré d'impact négatif sur l'environnement, mais elle n'est pour le moment pas disponible à la commercialisation (Hoste, Torres-Acosta, 2011). En revanche une spécialité (BioWorma ND) est actuellement à l'étude en France par l'Agence Nationale du Médicament Vétérinaire (ANMV).

D'autres méthodes alternatives aux anthelminthiques usuels sont encore en stade de recherche comme par exemple l'utilisation d'oxyde de cuivre, ou encore de bactéries dont les endotoxines s'avèreraient être nématocide (*Bacillus thuringiensis*) (Eichstadt, 2017).

7 Mise en évidence de la résistance

Comme nous l'avons vu précédemment, les signes cliniques liés à un défaut d'action du traitement anthelminthique sont plutôt tardifs. Dans une population donnée de parasites, les allèles de résistance sont largement répandus avant les premiers signes de perte d'efficacité du traitement. La mise en place de tests précoces pourrait permettre de déceler à l'avenir l'état résistant de la population d'helminthes avant les premiers signes cliniques. Actuellement, nous sommes encore dans la démarche inverse où les tests de laboratoire sont appliqués dans un contexte de suspicion clinique de résistance en élevage.

Ces tests peuvent être réalisés directement sur l'hôte sur le terrain ou en station expérimentale (tests *in vivo*) et/ou *in vitro* à l'aide de matériels parasitaires prélevés à la ferme et testés en laboratoire.

7.1 Tests réalisés in vivo

7.1.1 Le FECRT (Fecal Egg Count Reduction Test)

Le test de réduction des intensités d'excrétion d'œufs dans les matières fécales peut être réalisé avec l'ensemble des anthelminthiques et pour toutes les familles de strongles. Ce test est réalisable directement à la ferme, il est simple à mettre en place dans son principe. Il s'appuie sur l'intensité d'excrétion fécale d'œufs de strongles dans les fèces avant et après traitement afin d'approcher indirectement l'efficacité de l'anthelminthique testé. Le pourcentage de réduction ainsi obtenu donne une estimation de la résistance globale de la population d'helminthes vis-à-vis de l'antiparasitaire utilisé.

- **Modalités de mise en œuvre (suivant la *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P)*, revue en 2006) :**

- Le nombre d'individus par lot doit être idéalement de 15 animaux avec un minimum de 10. Les lots sont constitués aléatoirement mais de manière homogène (âge notamment).

- Les animaux doivent avoir pâturés sur les mêmes parcelles et pendant une période au moins égale à la période prépatente des nématodes recherchés.

- Les excréments fécaux individuelles avant traitement doivent être supérieures à 150 œufs par gramme (OPG) et les animaux ne doivent pas avoir été traités depuis moins de 3 mois (attention aux molécules rémanentes comme la moxidectine longue action).

- Pour chaque animal, 3 à 5 g de matières fécales sont prélevés directement dans le rectum, puis conditionnés et identifiés individuellement.

- Les prélèvements sont analysés aussi vite que possible par la technique de McMaster modifiée présentée dans la Partie 1, 5.1.1. Les prélèvements peuvent être conservés à 4°C si l'analyse n'est pas immédiate, mais au maximum 24h si des coprocultures sont effectuées par la suite.

- Les animaux sont traités avec l'anthelminthique à tester à la dose recommandée par le fabricant, selon le poids de l'animal le plus lourd du lot. Le

traitement est administré par voie orale à l'aide d'une seringue idéalement, ou d'un pistolet drogueur correctement calibré.

- Les prélèvements post-traitements sont effectués après un délai qui dépend de l'anthelminthique concerné : 3-7 jours pour le lévamisole (IZD), 8-10 jours pour les BZ, 14-17 jours pour les LM. Ce délai est appliqué en raison d'une inhibition de ponte suite aux traitements, pouvant être à l'origine de faux-négatifs. Lorsque plusieurs anthelminthiques sont testés, un prélèvement de l'ensemble des lots à 14 jours post-traitement est un compromis raisonnable (Jacquet, Fidelle, et al., 2014b).

- **Le mode de calcul du FECR :**

Le FECRT est le test de référence sur le terrain pour le diagnostic de la résistance aux anthelminthiques chez les ovins (Coles et al., 2006). Cependant, les résultats du FECRT peuvent être influencés par le plan mis en œuvre décrit supra, mais aussi par la formule mathématique utilisée pour calculer l'efficacité des médicaments (Miller et al., 2006). La littérature décrit plusieurs méthodes pour calculer la réduction fécale d'excrétion d'œufs. Ces méthodes diffèrent en fonction de différents éléments pris en compte ou non dans la formule :

- du type de moyenne (arithmétique ou géométrique) utilisée pour le calcul de la moyenne d'excrétion du lot testé. Certains auteurs ont suggéré que l'utilisation d'une moyenne arithmétique fournit de meilleures estimations sans biais de l'excrétion moyenne d'œufs de strongles du lot testé (Coles et al., 1992 ; Dobson et al., 2009). A l'inverse d'autres auteurs estiment que la moyenne géométrique est un estimateur plus approprié car l'excrétion d'œufs n'est pas une variable constante au sein de la population et dépend davantage du caractère sur-dispersé du parasite dans le cheptel (Smothers et al., 1999).

- de la prise en compte du niveau d'excrétion du lot témoin avant et/ou après traitement. Cette méthode permet de prendre en compte l'évolution naturelle de l'excrétion des animaux au cours du temps, valable si l'excrétion des œufs du lot témoin est équivalente à celle des lots traités.

- de la prise en compte du niveau d'excrétion des lots traités avant et après traitement.

On obtient ainsi les formules suivantes (T1 : lot testé avant traitement à J0, T2 : lot testé après traitement à J14, C1 : lot contrôle à J0, C2 lot contrôle à J14) :

$$\circ \text{ FECR}_1 = 100 \times \left[1 - \left(\frac{T_2}{T_1} \times \frac{C_1}{C_2} \right) \right],$$

qui prend en compte le lot contrôle et le lot testé avant et après traitement, moyenne arithmétique utilisée par (Dash et al., 1988), moyenne géométrique utilisée par (Presidente, 1985)

$$\circ \text{ FECR}_2 = 100 \times \left[1 - \left(\frac{T_2}{C_2} \right) \right],$$

qui prend en compte le lot contrôle et le lot testé après traitement uniquement, proposée par (Coles et al., 1992).

$$\circ \text{ FECR}_3 = 100 \times \left[1 - \left(\frac{T_2}{T_1} \right) \right],$$

qui prend en compte le lot testé avant et après traitement uniquement, proposé par (McKenna, 2006), permettant de s'affranchir du lot témoin et réduisant le nombre d'échantillon de selles requis.

Selon une étude réalisée en 2014, portant sur 47 élevages, le statut résistant de l'élevage peut être modifié en fonction de la formule utilisée. Dans l'ensemble, la FECR_2 décrite par (Coles et al., 1992) est la formule montrant le plus grand accord avec toutes les autres méthodes de calcul, en particulier lorsque les niveaux de la résistance est faible. Cette formule est donc à privilégier. Elle minimiserait les coûts et le travail associé à la réalisation du test, tout en permettant des comparaisons normalisées entre les différentes fermes et études, avec un risque minimal de biais. Cependant les auteurs précisent dans l'étude que les chercheurs devraient favoriser l'utilisation de FECR_1 , car l'inclusion du lot contrôle et testé avant et après traitement rend l'estimation de l'efficacité de l'anthelminthique plus fiable par la prise en compte des variations temporelles d'excrétion d'œufs par les ovins (Falzon et al., 2015).

- **Interprétation du test :**

Selon les recommandations de la WAAVP (1992, 2006) :

Si FECR supérieur à 95% <u>ET</u> limite inférieure de l'intervalle de confiance* à 95% > 90%	Population sensible
Si FECR inférieur à 95% <u>OU</u> limite inférieure de l'intervalle de confiance* à 95% < 90%	Résistance suspectée
Si FECRT inférieur à 95% <u>ET</u> limite inférieure de l'intervalle de confiance* à 95% < 90%	Résistance avérée

* Le détail du calcul de l'IC à 95% est fourni dans l'Annexe 12.

- **Avantages et limites du FECRT :**

C'est un test qui est relativement facile à mettre en œuvre en élevage et peut être appliqué à toutes les familles de molécules testées.

Cependant il peut représenter un certain coût notamment lorsque l'on cherche à appréhender plusieurs familles de molécules. Une approche par coprologie de mélange pourrait être envisagée au lieu des coprologies individuelles mais cette technique n'a pas encore été évaluée dans le cadre de dépistage de résistance en élevage ovin. Une étude réalisée en élevage bovin en 2017 a montré toutefois une très forte corrélation entre la FECR calculée par coprologies individuelles et coprologie de mélange ($r_s = 0.9282$, 95CI [0.7498 ; 0.9808], $p < 0.0001$) sous-entendant l'utilisation possible des coprologies de mélange dans un contexte de FECRT (George et al., 2017). Cette observation permettra peut-être d'envisager différemment la réalisation du FECRT à l'avenir afin de minimiser les coûts et le temps de travail.

De plus, il peut manquer de sensibilité et dépend de nombreux facteurs comme par exemple du niveau individuel d'excrétion d'œufs prétraitement, de la taille des groupes, de la sensibilité de la technique coproscopique, de la prolificité de l'espèce résistante, etc. Il se montre aussi relativement tardif, car il est considéré comme fiable si plus de 25% des parasites sont résistants (Papadopoulos, 2008).

Le FECRT permet d'approcher de manière correcte le statut de l'élevage vis-à-vis de la résistance aux molécules considérées. Cependant ce test devrait être confirmé par un bilan parasitaire à l'aide d'une infestation expérimentale afin de confirmer la résistance observée sur le terrain à une molécule particulière.

7.1.2 Le test par infestation expérimentale et bilan helminthologique

Ce test expérimental est considéré comme la référence pour déterminer la résistance à un anthelminthique. Il permet d'apprécier l'efficacité d'une dose thérapeutique sur une population de parasites donnée.

Des animaux naïfs sont infestés expérimentalement avec des larves L3 suspectées d'être résistantes et isolées par coproculture. Au terme de la période prépatente (minimum 3 semaines) le traitement pour lequel on cherche à évaluer le niveau de résistance est administré aux animaux.. Suivant le traitement administré, les animaux sont abattus dans les 7 à 15 jours et un bilan parasitaire est alors effectué sur les organes cibles (caillette et intestins). La résistance est confirmée si la réduction du nombre d'adultes par rapport au lot témoin est inférieure à 90%, ou si plus de 1000 vers ont survécu au traitement (Taylor et al., 2002 ; Erez, Kozan, 2018 ; Coles et al., 2006).

Bien que ce test soit extrêmement fiable, cette méthode reste très couteuse et longue à mettre en place. En outre, l'euthanasie des animaux est nécessaire et pose des problèmes éthiques. Elle est aujourd'hui très rarement utilisée (Papadopoulos, 2008).

7.2 Tests réalisés *in vitro*

7.2.1 Le test d'éclosion d'œufs (Egg Hatch Test)

Le test d'éclosion d'œufs est utilisé pour détecter une résistance à la famille des BZ. Les LM ne peuvent pas être testées avec cette méthode car elles n'ont pas d'activité ovicide tout comme le lévamisole (IDZ) (Taylor et al., 2002 ; Coles et al., 2006).

Le principe est d'évaluer la capacité du thiabendazole (BZ) à inhiber l'éclosion des œufs de SGI. Les œufs sont incubés dans une solution avec différentes concentrations de thiabendazole (BZ) afin de déterminer la DL50, soit la dose pour laquelle 50% des œufs ne se développent pas, ou la dose discriminante, c'est à dire la dose pour laquelle 99% des œufs sont tués. Il est particulièrement important d'utiliser des œufs frais (moins de 3 heures après la collecte), car la sensibilité au

thiabendazole (BZ) diminue avec l'embryogenèse (le test donnerait donc un résultat faussement négatif). La dose discriminante a été établie à l'aide de différentes souches sensibles de nématodes (Papadopoulos, 2008). Si des éclosions sont observées lorsque la dose de thiabendazole (BZ) est supérieure à la dose discriminante normale, évaluée à 0,1 µg/mL, cela signifie qu'une résistance est observée dans la souche testée (Coles et al., 2006). Le pourcentage d'éclosion au-dessus de la dose discriminante nous indique le pourcentage d'individus résistants au sein de la population de nématodes.

L'avantage de ce test est qu'il ne nécessite qu'un seul prélèvement de matières fécales par animal, mais il ne détecte les résistances que lorsqu'au moins 25% des allèles d'une population sont des allèles de résistance (Erez, Kozan, 2018). De plus, il ne faut pas négliger le fait que ces tests ne reflètent pas la réalité dans l'animal puisqu'ils ne tiennent pas compte du métabolisme et de la pharmacologie des molécules.

7.2.2 Tests sur les stades larvaires

Plusieurs méthodes ont été développées pour détecter la résistance sur les stades larvaires de nématodes (test de développement larvaire, test larvaire sur micro-agar, test de motilité larvaire, test de paralysie larvaire, etc.).

Le test de développement larvaire est celui qui a été le plus décrit. Il consiste à évaluer la capacité des larves à évoluer du stade L1 au stade L3, exposées à différentes concentrations d'anthelminthiques. L'effet de l'antiparasitaire peut ainsi être observé sur le développement des larves jusqu'au stade L3. A partir de cette méthode, tout comme le test d'éclosion d'œuf, il est alors possible de déterminer des doses discriminantes afin d'évaluer le niveau de résistance de la population étudiée (Jabbar et al., 2006 ; Coles et al., 2006). En outre, il est possible de déterminer l'espèce de nématodes résistante par description morphologique ou moléculaire.

Cependant, sa mise en place est plus longue que le test d'éclosion des œufs. Mais, il peut être appliqué pour évaluer la résistance des nématodes envers les LM ou le lévamisole (IDZ) (Jabbar et al., 2006). De plus, il est considéré comme plus sensible que les FECRT et EHT, détectant à priori la résistance lorsque seulement 10% de la population de vers sont porteurs de gènes résistants contre 25% pour les 2 autres tests (Dobson et al., 1996).

Le test d'inhibition de migration larvaire a fait l'objet d'un essai inter-laboratoire en Europe, en 2010, afin de proposer une procédure standardisée pour la réalisation de ce test. Il consiste à mesurer l'effet paralysant de l'ivermectine (LM) sur la capacité des larves du troisième stade (L3) à migrer à travers un maillage donné. Les mêmes souches de résistance connues ont été utilisées pour l'évaluation de ce test. Les valeurs de la concentration efficace CE50 étaient significativement très proche ($p < 0,0001$) entre les différents laboratoires laissant sous-entendre le critère reproductible de ce test (Demeler et al., 2010).

Le manque de reproductibilité et de standardisation sont souvent les deux critères en défaveur des tests basés sur les stades larvaires.

7.3 Méthode moléculaire par PCR et séquençage

Les outils moléculaires, notamment la PCR et le séquençage, font partie des axes majeurs de développement aujourd'hui dans l'évaluation de la résistance aux SGI. Ces techniques ont été développées pour identifier les changements qualitatifs et quantitatifs du génome des nématodes entre les populations sensibles et résistantes. Leur rôle est prépondérant dans la recherche des mécanismes moléculaires de l'acquisition de la résistance par les parasites.

Outre la recherche, ces outils peuvent être utilisés en routine pour détecter rapidement le statut résistant d'un élevage. En effet, ces tests sont plus spécifiques et plus rapides que les tests *in vivo* (FECRT, infestation et bilan parasitaire) et les tests *in vitro* (EHT, tests larvaires, etc.) malgré des équipements et des matériaux coûteux.

Ainsi, dans le cadre de la recherche du statut d'un élevage vis-à-vis des BZ, où des polymorphismes mononucléotidiques liés à la résistance sont connus, des outils moléculaires ont été développés. La méthode PCR permet une multiplication spécifique de l'un des allèles de résistance aux BZ, celui responsable de la substitution de l'acide aminé 200 de la β -tubuline, et ainsi le mettre en évidence dans la population si il est présent. Les autres allèles de résistance responsables des autres mutations évoqués précédemment peuvent aussi être recherchés. Cependant, ces tests peuvent manquer de sensibilité. En effet, il existe des

mécanismes non-spécifiques qui confèrent des résistances aux BZ et résultant d'autres mutations que celles identifiées jusqu'à présent (Kotze, Prichard, 2016).

Cette approche permet d'autre part de rechercher les premiers individus hétérozygotes (porteurs de l'allèle de résistance) avant tout échec thérapeutique de la molécule (Silvestre, Cabaret, 2002). Ainsi la forte sensibilité des outils moléculaires lorsque les mécanismes moléculaires sont connus, permettraient de rechercher les allèles de résistance alors même que seulement 1% des individus seraient porteurs de cette résistance (Papadopoulos, 2008).

Malheureusement, cette approche reste pour le moment cantonnée à la famille des BZ où les mécanismes sont les mieux connus, mais de nombreuses études sont en cours pour les autres familles de molécules.

PARTIE 3 :

**EVALUATION DE LA RESISTANCE AUX
ANTHELMINTHIQUES DES STRONGLES GASTRO-
INTESTINAUX DANS SEPT ÉLEVAGES DU LIMOUSIN**

1 Introduction

La filière ovins viande est particulièrement bien développée en Nouvelle-Aquitaine. L'ancienne région administrative du Limousin représente à elle-seule environ 40% du cheptel de la Nouvelle-Aquitaine.

Le relief du Limousin s'élève progressivement, avec une altitude se situant entre 100 mètres au sud-ouest et près de 1000 mètres à l'est. Des plateaux et des cours d'eau viennent s'intercaler dans la montagne Limousine offrant des conditions favorables à un élevage extensif et une valorisation des prairies. Le type de production et le climat relativement favorable en plaine avec des précipitations annuelles moyennes de 1000 mm et une isotherme de 10°C à 11°C dans la Haute-Vienne, sont des conditions suffisantes pour le développement des strongles gastro-intestinaux (Direction régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement du Limousin, Profil environnement du Limousin, avril 2012).

De plus en plus d'études sont réalisées en France afin de faire un état des lieux de la résistance aux anthelminthiques. Tout comme la plupart des pays d'Europe, la résistance aux lactones macrocycliques et la multirésistance sont des phénomènes prenant de plus en plus d'ampleur. Peu de données sont disponibles actuellement sur la région du Limousin et d'autant plus sur la Haute-Vienne. Une étude réalisée en 2016 en Corrèze a montré une situation préoccupante avec une résistance probable à l'ivermectine (LM) (Milhes et al., 2017).

Afin de prospecter la résistance en élevage, le test de réduction d'excrétion fécale d'œufs de strongles (FECRT) est la référence. Cependant, même si sur le principe, il est facile à mettre en œuvre en élevage, il est relativement long et coûteux dès lors que l'on veut tester plusieurs familles de molécules sur des lots relativement grands (10 à 15 individus). Une nouvelle approche serait de réaliser des coprologies de mélange pour les lots testés en lieu et place des coprologies individuelles afin de diminuer le coût et le temps de réalisation. Une étude publiée en 2017 montre des résultats intéressants en élevage bovins avec une forte corrélation sur les pourcentages de réduction d'intensités d'excrétion d'œufs obtenus par les deux méthodes (George et al., 2017). De plus, les nouveaux outils moléculaires permettent plus facilement d'approcher les espèces responsables de la résistance observée.

Les objectifs de cette étude sont de deux ordres :

- Premièrement, réaliser un état des lieux de la résistance en Haute-Vienne, la dernière datant du début des années 90 ; ceci afin d'en rendre compte aux éleveurs et aux vétérinaires praticiens de la zone et de réévaluer les pratiques d'élevages et de vermifugation dans la région.
- Secondairement, comparer l'utilisation de la coprologie de mélange pour le calcul du FECR par rapport aux coprologies individuelles afin d'évaluer cette méthode en filière ovine, qui pourrait se montrer plus adaptée et moins coûteuse en élevage.

2 Matériels et méthodes

2.1 Elevages participants à l'étude

Le choix des élevages s'est fait sur la base du volontariat. Laurence Sagot, chef de projet « conduites, alimentation, santé et reproduction en élevage ovine » à la Ferme expérimentale ovine du Mourier de l'institut de l'élevage, nous a été d'une grande aide. En effet, elle a permis une première prise de contact avec les éleveurs, sélectionnant ceux pouvant entrer dans l'étude.

Pour que l'expérience puisse être menée à bien, les élevages devaient se composer de brebis de race allaitante (la plupart des traitements étant non autorisés en lactation, voir Tableaux 3a, 3b). Les animaux ne devaient pas avoir reçu de traitement anthelminthique depuis au minimum deux mois au moment des premiers prélèvements, devaient être rentrés en bergerie lors de nos visites et être au nombre de 70 minimum. Les manipulations se sont déroulées d'octobre à décembre 2018.

Afin d'être certain de ne pas faire entrer inutilement dans l'étude un élevage dans lequel les brebis ne seraient pas parasitées, nous avons réalisé un « pré-test ». Des coproscopies sur 5 animaux choisis aléatoirement ont été réalisées par le laboratoire habituel de l'élevage ou par nos soins au laboratoire de parasitologie de

l'ENVT. Les élevages où la moyenne d'excrétion d'œufs sur 5 brebis était inférieure à 150 opg n'ont pas été retenus.

Sur ces critères, 7 élevages ont été retenus, dont 6 se situent en Haute-Vienne et 1 en Corrèze en limite avec la Haute-Vienne. Les élevages seront par la suite désignés par une lettre, de A à G.

Chaque éleveur a rempli un questionnaire permettant de réunir les principales informations de l'élevage utile à l'étude : la composition de l'élevage, le mode de pâturage, l'organisation de la lutte contre les strongles gastro-intestinaux et les principales molécules utilisées, etc... Toutes ces informations sont résumées dans les Annexes 1 à 3.



Figure 9 : Localisation des élevages au sein du Limousin

2.2 Climat du Limousin

Le climat du Limousin est tempéré. Le limousin est une région de précipitations importantes, la moyenne des précipitations annuelles ayant atteint 1043,8 mm sur l'année 2018. La température annuelle moyenne est de 13°C. La température maximale atteinte en 2018 était de 34°C au mois d'août et minimale de -9,5°C en février. (Climatologie de l'année 2018 à Limoges-Bellegarde - Infoclimat)

La température moyenne au cours de l'année varie de 15,2 °C et les précipitations varient de 48 mm seulement entre le mois le plus sec et le plus humide.

Le climat très humide est donc propice au développement et à la survie des larves de strongles. Le climat doux semble privilégier *T. circumcincta* et *T. colubriformis* mais les températures estivales sont suffisamment élevée pour une infestation par *H. contortus*.

2.3 Protocole expérimental en élevage

L'une des méthodes d'évaluation de la résistance des strongles aux anthelminthiques est le test de réduction des intensités d'excrétion d'œufs dans les matières fécales ou FECRT. Ce test a été standardisé en 1992, par la *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P)* (Coles et al., 1992). Il évalue la résistance en comparant l'excrétion fécale d'œufs (FEC) de lots traités, à l'excrétion fécale d'un lot contrôle non traité. En pratique, des matières fécales sont prélevées individuellement à J0 avant traitement puis 14 jours après. Les résultats obtenus nous permettent de calculer le coefficient de réduction d'intensité excrétion fécale d'œufs de strongles (FECR) et d'en déduire le statut parasitaire de l'élevage vis-à-vis des traitements testés.

2.3.1 Constitution des lots

Dans chaque élevage, 70 brebis ont été sélectionnées aléatoirement et réparties en 7 lots de 10 brebis : un lot traité avec du fenbendazole (Panacur® 2,5%, 5 mg/kg, voie orale), un second avec du lévamisole (Lévamisole 3,75% buvable, 7,5 mg/kg sans dépasser 10 mL par brebis, voie orale), un troisième avec de l'ivermectine (Oramec®, 0,2 mg/kg, voie orale), un quatrième avec de la moxidectine (Cydectine® 0,1%, 0,2 mg/kg, voie orale), un cinquième avec du closantel (Seponver®, 10 mg/kg, voie orale), un sixième avec du monépanтел (Zolvix®, 2,5 mg/kg, voie orale), et enfin un dernier lot contrôle non traité.

Ainsi toutes les familles et modes d'action des anthelminthiques disponibles en France sont représentés. La voie d'administration utilisée est la voie orale.

La répartition des brebis dans chaque lot s'est fait de telle sorte que chaque classe d'âge y soit représentée et que la moyenne d'âge de chaque lot soit similaire.

Ces lots resteront identiques lors de nos deux visites : la première à J0 qui correspond à la mise en place du traitement, et la seconde deux semaines plus tard à J14.

Lorsque le nombre de brebis dans l'élevage nous l'a permis, des prélèvements ont été réalisés sur 11 ou 12 brebis par lot au lieu de 10, à J0. Cela nous a permis par la suite d'éliminer au besoin une brebis trop peu parasitée pour entrer dans l'étude ($FEC < 150$ opg) et d'avoir plus de chance de conserver des lots de 10 brebis. Dans le cas où plusieurs brebis présentaient des FEC inférieurs à 150 opg rendant impossible la composition d'un lot de 10 brebis suffisamment parasitées, les animaux concernés ont été de nouveau prélevés à J14 mais non inclus in fine dans les calculs permettant la mise en évidence de résistance en coproscopie individuelle.

Nous avons donc prélevé à J0 :

- Elevage A : 11 brebis par lot
- Elevage B : 12 brebis par lot
- Elevage C : 10 brebis par lot
- Elevage D : 11 brebis par lot
- Elevage E : 10 brebis par lot
- Elevage F : 11 brebis par lot
- Elevage G : 10 brebis par lot

2.3.2 Marquages, prélèvements et traitements à J0

Tour à tour, chaque brebis, amenée par l'éleveur ou coincée au cornadis, en fonction des installations de l'élevage, est marquée à l'aide d'une bombe de couleur prévue à cet effet et correspondant à son lot.

Elle est ensuite prélevée à l'aide d'un gant à usage unique, en intra-rectal, d'une poignée de fèces conservée dans un pot individuel identifié. L'identification du pot correspond au numéro unique de l'animal lisible sur une des boucles fixées à ses oreilles.

Le traitement anthelminthique est ensuite administré par voie orale à l'aide d'une seringue de 20 mL, en quantité correspondant au poids de la brebis la plus lourde de l'élevage.

En effet, avant d'initier le protocole, l'éleveur a estimé parmi le lot de brebis concerné, le poids du plus lourd individu, ce qui permet d'éviter des sous-dosages pour le reste du troupeau. L'index thérapeutique des molécules choisies étant large, il existe peu de risques d'intoxication ou d'effets secondaires. Ceci excepté pour le lévamisole dont la quantité administrée, quel que soit le poids de la brebis, ne doit pas dépasser 0,375 g de lévamisole par animal, soit 10 mL de produit à une concentration de 3,75%.

Afin d'uniformiser les manipulations, le lot témoin s'est vu administrer par voie orale à l'aide d'une seringue de 20 mL, 10 mL d'eau du robinet de l'exploitation.

Les pots contenant les prélèvements ont ensuite été conservés dans un réfrigérateur portatif le temps du voyage puis conservés au laboratoire au réfrigérateur à 4°C.

2.3.3 Prélèvements à J14

Une seconde visite a lieu 14 jours plus tard afin de prélever de nouveau chaque brebis. Les prélèvements ont lieu de la même manière que précédemment, les couleurs nous permettant de retrouver plus rapidement les animaux de chaque lot. Aucun traitement n'est administré.

Il se peut que certaines brebis n'aient pu être prélevées de nouveau à cette étape. En effet, l'ampoule rectale est parfois vide, même au bout d'une heure d'attente. Ces brebis seront donc retirées de l'étude.

2.4 *Protocole au laboratoire*

Dans les 48 heures suivant les prélèvements à J0 et J14, nous avons réalisé des coproscopies individuelles et de mélange, et mis en culture les œufs.

2.4.1 Coproscopies individuelles

Pour chaque brebis prélevée, une coproscopie individuelle à l'aide de la méthode de McMaster décrite en 5.1.1 de la Partie 1 est réalisée. Pour chaque individu nous obtenons donc une valeur d'intensité d'excrétion d'œufs à J0 avant traitement puis à J14.

Au total lors de cette étude, nous avons réalisé 1020 coproscopies individuelles au laboratoire de parasitologie de l'ENVT (nombre prenant en compte les coproscopies individuelles de pré-test, à J0, J14 et en soustrayant les individus vides à J14).

Il a été choisi ici de calculer les FECR en comparant les FEC du lot traité à J14 (T_2) avec les FEC du lot contrôle à J14 (C_2) telles que les guidelines mondiales le recommandent, correspondant à la formule $FECR_2$ décrite au paragraphe 7.1.1 de la Partie 2. On a ainsi :

$$FECR = 100 \times \left[1 - \left(\frac{T_2}{C_2} \right) \right]$$

2.4.2 Coproscopies de mélange

Pour chaque lot (de 10 brebis en théorie, si tous les prélèvements ont pu être réalisés à J14), une coproscopie de mélange est réalisée en prélevant et mélangeant 1 gramme de fèces des brebis d'un même lot. La technique est celle décrite en 5.1.1 de la Partie 1.

Ainsi la moyenne des valeurs de 10 coproscopies individuelles pourra être comparée à la valeur d'une coproscopie de mélange de ces 10 animaux.

Au total lors de cette étude, nous avons réalisé 98 coproscopies de mélange.

2.4.3 Culture larvaire

Une fois les coproscopies individuelles et de mélange réalisées, les matières fécales résiduelles sont mises en culture. Pour se faire, une dizaine de grammes de fèces de chaque animal d'un même lot sont mis en commun dans un grand pot de culture. Le tout est remué, arrosé et mis à l'incubateur à 24 +/- 1°C pendant 10 à 11 jours (en fonction du calendrier et des jours de fermeture du laboratoire). Tous les

deux jours, les pots sont remués afin de permettre une oxygénation correcte du milieu et l'humidité est ajustée à l'aide d'une pissette à eau. Suite à ces 10 à 11 jours, les larves L3 sont récupérées selon la méthode MAFF décrite en 5.1.2 de la Partie 1, à deux reprises, à 24 et 48 heures. Les deux prélèvements sont mis en commun, le tube est centrifugé et seul le culot contenant les larves est conservé au réfrigérateur.

Nous obtenons donc 14 tubes par élevage : 7 tubes correspondant aux 7 lots à J0 et 7 tubes correspondant aux 7 lots à J14. Au total, nous avons obtenu des populations de larves de 98 milieux de culture différents.

2.4.4 Comptage larvaire manuel

Le nombre de larves par millilitre de suspension larvaire est estimé en comptant au microscope toutes les larves L3 contenues dans 2 volumes de 40 μ L. Ce volume est prélevé après avoir homogénéisé le mélange contenant les larves à l'aide d'un vortex. Les 40 μ L de solution contenant les larves sont déposées sur une lame puis recouverts d'une lamelle. La lame est ensuite chauffée par dessous à l'aide d'une allumette en feu afin de tuer les larves présentes et faciliter le décompte. Les résultats obtenus après comptage de deux lames sont ensuite ajoutés et multipliés par 12,5 afin d'estimer le nombre de larves présentes par millilitre de suspension larvaire. Cela nous permettra de vérifier la cohérence du comptage par qPCR.

2.4.5 PCR en temps réel

- Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN des larves L3 a été effectuée à l'aide du kit DNeasy Power Soil (QIAGEN) selon le protocole du fabricant. Les extractions ont été réalisées pour tous les lots de cultures de larves, ce qui représente 98 extractions.

Une fois l'ADN extrait, les échantillons sont conservés au congélateur à - 20°C jusqu'à leur analyse.

- Caractérisation de la réaction PCR

Toutes les manipulations ont été réalisées selon une méthode PCR en temps réel utilisant la technologie Taqman, dont le principe a été présenté dans la Partie 1, 5.1.3.

Les réactions PCR sont effectuées en simplex, c'est-à-dire que sont mis en présence des échantillons d'ADN extraits, un seul type d'amorce et de sonde spécifiques d'une espèce donnée, par puits. Cela a pour but d'éviter les hybridations non-spécifiques et les compétitions entre les amorces et sondes des différentes espèces. Chaque puits sera donc le siège de la multiplication d'une séquence d'ADN d'une seule espèce donnée : *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, ou *Trichostrongylus colubriformis*.

Chaque puits contient 2,5 µL d'ADN matrice à amplifier ainsi que 17,5 µL de mix. Le mix contient 10 µL de Master Mix, 5,5 µL d'eau BSA, 0,5 µL d'amorce F (10 µM), 0,5 µL de NCR (10 µM) et 1 µL de sonde P (2 µM).

- Le Master Mix (Quantinova Probe PCR Master Mix, QIAGEN) est une solution commerciale contenant les réactifs nécessaires à la qPCR : la Taq-polymérase, des dNTP (nucléotides), des ions magnésium Mg^{2+} (co-facteur de la Taq-polymerase), et une solution tampon.
- L'amorce F (pour forward) est l'amorce qui se fixe au début de la séquence que l'on amplifie. L'amorce est un oligonucléotide composé de 20-25 paires de bases environ, spécifique à chaque espèce et synthétisée par le laboratoire Eurogentec.
- L'amorce NCR est l'amorce reverse se fixant à la fin de la séquence que l'on souhaite amplifier. Elle est commune aux 3 espèces de strongles.
- La sonde P est aussi un oligonucléotide d'une trentaine de paires de base qui est complémentaire à une séquence spécifique contenu dans la séquence amplifiée par le couple d'amorce. Elle est composée d'un fluorochrome et d'un inhibiteur. La sonde n'émet de fluorescence que lorsqu'elle est hydrolysée par la polymérase durant la phase d'amplification. Il en existe une pour chaque espèce ciblée. Elle est également synthétisée par Eurogentec.

- L'eau BSA (Bovine Serum Albumin) est une solution qui permet de diminuer les effets des inhibiteurs de PCR et de favoriser les amplifications des séquences ciblées

Les séquences des amorces et des sondes spécifiques sont celles validées par *Milhes et al.* en 2017 et sont présentées dans le Tableau 6. Cette étude présente également les étapes d'optimisation des amorces ainsi que la vérification de la sensibilité et de la spécificité de la méthode.

	<i>Haemonchus</i>	<i>Teladorsagia</i>	<i>Trichostrongylus</i>
Amorce F	CA + TATACATGCAAC + G (Tm = 54°C)	+CAGTT + CAAGAATAA + C (Tm = 51°C)	AATGGT + CATTRTCAA + A (Tm = 53°C)
NCR	TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT (Tm = 54°C)		
Sonde P	TGACATGTATGGCGACGAT	CCGTCGTAACGTTCTGAAT	CCTGTATGATGTGAACGTGT

Tm : température d'hybridation / +N : « locked nucleic acid », technologie LNA

Tableau 6 : Séquences nucléotidiques des différentes amorces et sondes utilisées (Milhes et al., 2017)

Le design des amorces fait appel à une technologie appelée « Locked Nucleic Acid » (LNA). Ce sont des bases nucléotidiques modifiées, qui permettent d'augmenter la spécificité des amorces pour leur région d'ADN complémentaire et de réduire les mésappariements.

Le thermocycleur utilisé est le Mx3005P (Agilent Technology, La Jolla, CA, USA). Les cycles d'amplifications utilisés ici se déroulent de la manière suivante : une dénaturation initiale à 95°C pendant 2 minutes (pour l'activation de la Taq-polymérase), puis 45 cycles constitués chacun de 30 secondes à 95°C (pour la dénaturation des brins d'ADN) et 1 minute à 53°C (température optimale d'hybridation des amorces et sondes ; pour l'amplification de l'ADN).

Les résultats d'amplification sont ensuite analysés à l'aide du logiciel MxPro QPCR v4.10 software (Agilent Technologies, La Jolla, CA, USA).

La Figure 10 représente le plan de plaque type, préparé pour chaque manipulation. Une plaque contient 96 puits et permet d'amplifier l'ADN de 8 suspensions larvaires différentes, en deux exemplaires par espèce de strongle étudiée. Nous utilisons donc une plaque par élevage, deux puits par espèce (réactions en duplicate) et par lot soit 6 puits par lot.

- Réalisation de courbe étalon à partir de la gamme plasmide

Au sein d'une plaque, 48 puits sont réservés aux échantillons à tester. Les 48 puits suivants servent à la réalisation de gammes étalons qui nous permettent de traduire la fluorescence captée dans un puits en nombre de larves de l'espèce recherchée. On obtient trois courbes étalons par plaque, une pour chacune des espèces ciblées.

La gamme étalon est réalisée avec un plasmide contenant les séquences cibles des 3 espèces de strongles étudiés (dont pour chacune, les deux séquences complémentaires aux amorces et à la sonde, ainsi que des séquences consensus). Il est synthétisé par Eurogentec. Au laboratoire de parasitologie de l'ENVT, il est ensuite inséré dans des bactéries *E. coli* DH5 α transformées et mises en culture pour son amplification. Les plasmides sont ensuite extraits des bactéries et purifiés grâce au kit Nucleospin Plasmid (Machery-Nagel) en suivant le protocole du fabricant avec toutes les centrifugations suggérées. L'ADN plasmidique est ensuite dosé au Multiskan Go μ DropPlate (ThermoFischer Scientist) avant d'être dilué en série jusqu'à obtenir des concentrations ADN plasmidiques équivalentes à 500, 250, 125, 62, 31 et 7,5 larves pour constituer la gamme étalon de chaque plaque.

La courbe étalon correspond aux différents couples *Ct/nombre de larves*, pour une espèce donnée. Le *Ct* (Cycle threshold) est le cycle au-dessus duquel le thermocycleur capte la fluorescence en la distinguant du bruit de fond. Le *Ct* est donc le nombre de cycles nécessaires pour la détection de la fluorescence spécifique par l'appareil et est grandement influencé par la quantité d'ADN cible présente au départ. Ainsi, plus la quantité d'ADN est importante, plus le nombre de cycles nécessaires sera faible. Avec les différents *Ct* obtenus pour les différentes

quantités d'ADN, une courbe étalon est définie pour chaque espèce et représentée par une droite. L'équation de la droite obtenue est de la forme $ax + b$. La pente de la droite sera notée p .

Pour chaque réaction PCR, le logiciel nous donne un Ct que l'on notera $Ct_{echantillon}$. La formule suivante permet de retrouver le nombre de larves d'une espèce donnée, présentes initialement dans un puits.

$$\text{Nombre de larves} = 10^{\frac{Ct_{echantillon} - b}{a}}$$

L'efficacité de la PCR représente le nombre d'amplification par cycle de la séquence cible. Elle doit être comprise entre 80 et 120 % et est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Efficacité PCR (\%)} = 10^{\left(\frac{-1}{p}\right)}$$

	Elevage X						Gamme étalon					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Panacur® J14	Panacur® J14	Panacur® J14	Panacur® J14	Panacur® J14	Panacur® J14	500	500	500	500	500	500
B	Levamisole® J14	Levamisole® J14	Levamisole® J14	Levamisole® J14	Levamisole® J14	Levamisole® J14	250	250	250	250	250	250
C	Oramec® J14	Oramec® J14	Oramec® J14	Oramec® J14	Oramec® J14	Oramec® J14	125	125	125	125	125	125
D	Cyductine® J14	Cyductine® J14	Cyductine® J14	Cyductine® J14	Cyductine® J14	Cyductine® J14	62	62	62	62	62	62
E	Zolvix® J14	Zolvix® J14	Zolvix® J14	Zolvix® J14	Zolvix® J14	Zolvix® J14	31	31	31	31	31	31
F	Seponver® J14	Seponver® J14	Seponver® J14	Seponver® J14	Seponver® J14	Seponver® J14	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
G	Témoin J0	Témoin J0	Témoin J0	Témoin J0	Témoin J0	Témoin J0	TNEG	TNEG	TNEG	TNEG	TNEG	TNEG
H	Témoin J14	Témoin J14	Témoin J14	Témoins J14	Témoin J14	Témoin J14	TEXT _{ech}	TEXT _{ech}	TEXT _{ech}	TEXT _{ech}	TEXT _{ech}	TEXT _{ech}

TNEG : témoin négatif, ne contient aucun ADN (ni plasmide, ni échantillon)

TEXT_{ech} : témoin du kit d'extraction utilisé pour les échantillons testés sur la plaque

Haemonchus contortus
Teladorsagia circumcincta
Trichostrongylus colubriformis

Figure 10 : Plan de plaque utilisé lors des différentes qPCR pour un élevage X donné

3 Résultats

Dans la suite de l'étude, le code couleur utilisé se réfère au statut des parasites vis-à-vis de la molécule anthelminthique testée, il correspond à :

	Un statut sensible
	Un statut douteux
	Un statut résistant

3.1 *Coprologies individuelles*

3.1.1 Résultats FECRT

Pour chaque lot, le FEC moyen a été calculé à J0 et à J14. Il a été obtenu à partir des FEC individuels en appliquant une moyenne arithmétique. Le dénominateur correspond au nombre d'individus n dans chaque lot. Seuls les individus, ayant un FEC supérieur ou égal à 150 opg à J0 ont été pris en compte dans le calcul du FEC moyen et du FECR. La formule appliquée pour le calcul du FECR et de l'intervalle de confiance correspondent aux références (Coles et al., 1992) et sont détaillés dans l'Annexe 12.

Dans le tableau 7 suivant, le FEC, le FECR et l'IC95% sont mentionnés pour chaque lot de chaque élevage. Pour rappel, le lot contrôle correspond au lot non traité, il n'y a donc pas de calculs de FECR et d'IC95%.

Lot	Résultats	Elevage A		Elevage B		Elevage C		Elevage D		Elevage E		Elevage F		Elevage G	
		J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14
Témoin	FEC moyen (opg)	8675	6440	820	910	820	910	1333,3	1755,6	862,5	603,8	200	225	657,1	1014,3
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=9	n=4	n=4	n=4	n=4	n=7	n=7
Panacur® (fenbendazole)	FEC moyen (opg)	5995	730	705	405	705	405	4225	1027,5	550	593	310	122	521,4	325,7
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=5	n=5	n=5	n=5	n=7	n=7
	FECR (%)	88,7		55,5		55,5		41,5		1,8		45,8		67,9	
	IC 95% (%)	[72,9 ; 95,3]		[20,4 ; 75,1]		[20,4 ; 75,1]		[-165,8 ; 87,1]		[-439,3 ; 82,1]		[-61,5 ; 81,8]		[26,5 ; 86,0]	
Lévamisole 5%® (lévamisole)	FEC moyen (opg)	14000	124	680	315	680	315	1565	52	1342,9	164,3	383,3	25	931,3	80,6
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=7	n=7	n=6	n=6	n=8	n=8
	FECR (%)	98,1		65,4		65,4		97		72,8		88,89		92,1	
	IC 95% (%)	[95,46 ; 99,18]		[41,6 ; 79,5]		[41,6 ; 79,5]		[79,0 ; 99,6]		[-58,4 ; 95,3]		[0,7 ; 98,8]		[42,3 ; 98,9]	
Oramec® (ivermectine)	FEC moyen (opg)	5490	41	775	23,5	775	23,5	3725	0	528,6	8,6	1942,9	0	1306,3	20,6
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=7	n=7	n=7	n=7	n=8	n=8
	FECR (%)	99,4		97,4		97,4		100		98,6		100		98	
	IC 95% (%)	[98,1 ; 99,8]		[93,5 ; 99,0]		[93,5 ; 99,0]		[100]		[91,2 ; 99,8]		[100]		[85,8 ; 99,7]	
Cydectine® (moxidectine)	FEC moyen (opg)	10215	37,5	495	26,5	495	26,5	3170	1,5	1606,3	47,5	650	2,14	611,1	0
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=8	n=8	n=7	n=7	n=9	n=9
	FECR (%)	99,4		97,1		97,1		99,97		92,1		99,1		100	
	IC 95% (%)	[98,3 ; 99,8]		[90,0 ; 99,2]		[90,0 ; 99,2]		[99,3 ; 100]		[41,8 ; 98,9]		[91,5 ; 99,9]		[100]	
Zolvix® (monépantel)	FEC moyen (opg)	10920	1,5	535	1,5	535	1,5	1170	0	1916,7	0	700	10,71	2585,7	0
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=3	n=3	n=7	n=7	n=7	n=7
	FECR (%)	99,98		99,8		99,8		100		100		95,2		100	
	IC 95% (%)	[99,8 ; 100]		[98,7 ; 100]		[98,7 ; 100]		[100]		[100]		[85,3 ; 98,5]		[100]	
Seponver® (closantel)	FEC moyen (opg)	9860	500	1020	590	1020	590	1683,3	93,4	300	300	407,1	138,6	1200	1093,8
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=9	n=2	n=2	n=7	n=7	n=8	n=8
	FECR (%)	92,3		35,2		35,2		94,7		50,3		38,4		-7,8	
	IC 95% (%)	[83,0 ; 96,5]		[-4,8 ; 99,9]		[-4,8 ; 99,9]		[85,7 ; 98,0]		[-201,5 ; 91,8]		[-183,5 ; 86,6]		[-171,0 ; 57,1]	

Tableau 7 : FECR obtenus par coprologies individuelles

3.1.2 Interprétation des FECRT

L'élevage A présente des intensités d'excrétion très élevées avec en moyenne 9000 opg pour les 7 lots. Cette forte excrétion est très favorable à la réalisation du FECRT. Le FECR pour le fenbendazole (BZ) est de 88.7% et la borne inférieure de l'intervalle de confiance est à 72.9%. Ces résultats permettent d'identifier une résistance aux BZ dans cet élevage. Les autres FECR sont supérieurs à 95%, les SGI de cet élevage sont encore sensibles au lévamisole (IZD), à l'ivermectine (LM), à la moxidectine (LM) et au monépantel (AADs) (Tableau 7). En outre, on obtient un FECR inférieur à 95% pour le closantel (SAL), cependant son spectre d'action est étroit et correspond uniquement aux strongles hématophages, c'est-à-dire *Haemonchus contortus*. Une réduction de 92.3% sous-entend que l'élevage est largement parasité par *Haemonchus contortus*, mais qu'il existe soit une autre espèce d'helminthe non atteinte par l'antiparasitaire soit qu'une partie de la population d'*Haemonchus contortus* est résistante au closantel (SAL). C'est l'identification des larves résiduelles à J14 par PCR qui nous indiquera le statut résistant ou sensible au closantel d'*Haemonchus contortus* dans cet élevage (Tableau 13).

Les élevages B et C présentent un FECR pour le fenbendazole (BZ) respectivement de 55.5% et -14%. La valeur négative trouvée dans l'élevage C signifie qu'il y a une excrétion d'œufs plus importante à J14 dans le lot traité au fenbendazole que dans le lot témoin, montrant l'inefficacité totale du traitement. Ainsi une résistance aux BZ a été identifiée dans ces deux élevages. De plus, une résistance au lévamisole (IZD) est aussi observée dans ces deux élevages en raison d'un FECR inférieur à 95% (65.4 % et 84.9% respectivement) et d'une borne inférieure de l'IC95% inférieure à 90% (41.6% et 49.3% respectivement). Ces deux élevages présentent ainsi un cas de multirésistance aux BZ et au lévamisole (IZD). Aucune résistance n'a été trouvée pour l'ivermectine (LM), la moxidectine (LM) et le monépantel (AADs) dans les élevages B et C (Tableau 7). Pour le closantel (SAL), la même remarque qu'au paragraphe précédent est appliquée, l'interprétation sera réalisée à l'aide de la PCR (Tableau 13).

Une résistance au fenbendazole (BZ) a été mise en évidence dans l'élevage D avec un FECR de 41.5% et une borne inférieure de l'IC95% à -165.8%. La

population d'helminthes reste cependant sensible à l'ivermectine (LM), à la moxidectine (LM) et au monépantel (AADs). Le cas du lévamisole (IZD) est particulier car le FECR est supérieur à 95% (97.0%) mais la borne inférieure de l'IC95% est inférieure à 90% soit 79.0% (Tableau 7). Une suspicion de résistance au lévamisole (IZD) est alors émise mais devra être confirmée par un test de laboratoire de type infestation expérimentale et comptage larvaire ou devra être refait dans quelques mois. Pour le closantel, le résultat sera précisé dans le Tableau 13.

Dans l'élevage E, un problème d'effectif s'est posé. En effet, il s'est avéré que l'excrétion fécale n'était pas homogène dans les différents lots avec beaucoup d'individus excréant moins de 150 opg. Malheureusement, on obtient des lots allant de 2 à 8 individus. Dans les petits lots il est donc difficile d'interpréter les résultats. Cependant, il semble se dessiner une résistance au lévamisole (IZD) et au fenbendazole (IDZ) comme dans certains des autres élevages testés. Des FECR de 1.8% et 72.8% ont été obtenus respectivement pour le fenbendazole (BZ) et le lévamisole (IZD). Le lot moxidectine (LM), qui comporte le plus d'individus (8), présente un FECR inférieur à 95% (92.1%) ainsi que 41.8% comme valeur de borne inférieure de l'IC95%. Ceci suggère une résistance à la moxidectine. Ainsi cet élevage semble présenter une résistance triple aux BZ, au lévamisole (IZD) et à la moxidectine (LM). Les SGI semblent cependant rester sensibles à l'ivermectine (LM) ainsi qu'au monépantel (AADs) (Tableau 7).

Dans les élevages F et G, certains individus présentaient des excréments fécaux inférieurs à 150 opg. La taille des lots s'échelonne de 4 à 9 individus. Dans ces deux élevages, une résistance au fenbendazole (BZ) et au lévamisole (IZD) a été observée avec des FECR respectivement de 45.8% et 88.9% pour l'élevage F et 67.9% et 92.1% pour l'élevage G. Dans l'élevage F, une suspicion de résistance au monépantel (AADs) est émise, car la borne inférieure de l'IC95% est inférieure à 90% (85.3%) même si le FECR est supérieur à 95% (95.2%). En revanche, dans l'élevage G, une suspicion de résistance à l'ivermectine (LM) est possible avec une borne inférieure à 85.8% et un FECR de 98%. Les deux élevages restent cependant sensibles à la moxidectine. Le statut vis-à-vis du closantel (SAL) sera établi lors de la réalisation de la PCR (Tableau 13).

En bilan, parmi les sept élevages nous avons donc observé :

- une résistance aux BZ dans tous les élevages testés,
- 5 élevages sur 7 présentent également une résistance avérée au lévamisole (IZD),
- 1 élevage possède une résistance à la moxidectine (LM),
- 1 élevage est suspecté résistant au monépanel (AADs) et un autre à l'ivermectine (LM).

Les résultats individuels de chaque élevage sont donnés dans le tableau ci-dessous.

A	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydecine®	Zolvix®
	Résistance	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
B	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydecine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Sensible	Sensible	Sensible
C	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydecine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Sensible	Sensible	Sensible
D	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydecine®	Zolvix®
	Résistance	Douteux	Sensible	Sensible	Sensible
E	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydecine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Sensible	Résistance	Sensible
F	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydecine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Sensible	Sensible	Douteux
G	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydecine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Douteux	Sensible	Sensible

Tableau 8 : Statut parasitaire de chaque élevage vis-à-vis du traitement testé en coprologies individuelles

3.2 Coprologies de mélange

3.2.1 Résultats FECRT

Les intensités moyennes d'excrétion d'œufs ont été évaluées pour chaque lot à J0 et à J14 et dans chaque élevage. Pour les obtenir, une coprologie de mélange a été réalisée sur les 10 individus prélevés et retenus pour constituer le lot. La méthode utilisée pour la coprologie de mélange est celle décrite dans la Figure 5. Afin de calculer le pourcentage de réduction de l'intensité d'excrétion d'œufs, les

deux moyennes d'excrétion d'œufs prises en compte sont celles de la coprologie mélange du lot concerné à J14 et celle de la coprologie de mélange du lot contrôle à J14. En adaptant la formule de référence on obtient la formule suivante :

$$FECR_{\text{mélange}} = 100 \times \left(1 - \frac{FEC_{\text{mélange lot J14}}}{FEC_{\text{mélange contrôle J14}}}\right)$$

La coprologie de mélange implique que tous les individus sont comptabilisés dans le calcul du FECR même ceux ayant une très faible excrétion. Seuls les individus ne présentant pas de selles lors de la 2^{ème} visite n'ont pas été pris en compte dans la manipulation. De plus, une seule coprologie de mélange a été réalisée par lot, rendant impossible le calcul d'un intervalle de confiance. Ainsi seule la valeur du FECR est utilisée dans l'interprétation des résultats. Pour la suite il sera admis que si FECR est inférieur à 95% alors la population d'helminthes sera dite résistante au traitement utilisé, dans le cas contraire elle sera dite sensible.

Dans le tableau suivant, l'intensité moyenne d'excrétion d'œufs (noté FEC) de chaque lot ainsi que les pourcentages de réduction de l'intensité d'excrétion d'œufs (noté FECR) sont indiqués sauf dans le cas des lots contrôles où seul le FEC est mentionné.

Lot	Résultats	Elevage A		Elevage B		Elevage C		Elevage D		Elevage E		Elevage F		Elevage G	
		J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14
Témoin	FEC moyen (opg)	8850	7650	700	700	500	950	1000	1350	450	200	100	300	950	650
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9
Panacur® (fenbendazole)	FEC moyen (opg)	5550	800	650	700	1450	1400	4500	1800	300	500	400	100	250	100
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=10	n=9	n=10	n=10
	FECR (%)	89,5		0		-47,37		-33,3		-150		66,7		84,6	
Lévamisole 5%® (lévamisole)	FEC moyen (opg)	11150	150	550	350	1950	150	1750	0	1150	150	350	0	650	100
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=10	n=10	n=10	n=10
	FECR (%)	98,7		50		84,2		100		25		100		84,6	
Oramec® (ivermectine)	FEC moyen (opg)	4550	15	500	15	1450	0	4600	0	500	0	950	0	950	0
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
	FECR (%)	99,8		97,9		100		100		100		100		100	
Cydectine® (moxidectine)	FEC moyen (opg)	6950	50	750	30	2700	0	2800	0	1600	15	550	0	400	0
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=10	n=9	n=10	n=10
	FECR (%)	99,4		95,7		100		100		92,5		100		100	
Zolvix® (monépantel)	FEC moyen (opg)	8100	0	650	15	2800	0	1750	0	200	15	400	15	1850	0
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9
	FECR (%)	100		97,9		100		100		92,5		95		100	
Seponver® (closantel)	FEC moyen (opg)	12200	450	1200	500	3100	1650	1650	45	150	50	250	100	950	850
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=9	n=10	n=9	n=10	n=10	n=10	n=10
	FECR (%)	94,1		28,6		-73,7		96,67		75		66,7		-30,8	

Tableau 9 : FECR obtenus par coprologies de mélange

3.2.2 Interprétation des FECRT

Pour l'élevage A, un FECR de 89.5% a été obtenu pour le lot traité avec le fenbendazole (BZ). Ce résultat étant inférieur à 95%, une résistance au BZ est observée. En revanche, l'helminthofaune est *à priori* sensible au lévamisole (IDZ), à l'ivermectine (LM), à la moxidectine (LM) et au monépantel (AADs) (Tableau 9). L'interprétation du lot traité avec le closantel reste la même que pour le FECRT avec les coprologies individuelles, il sera sujet à analyse lors des résultats de PCR (Tableau 13).

Dans les élevages B et C, une résistance au fenbendazole (BZ) et au lévamisole (IDZ) sont observées, le FECR étant inférieur à 95% pour les 2 lots concernés, respectivement 0% et 50% pour l'élevage B et -47.4% et 84.2% pour l'élevage C. L'ivermectine (LM), la moxidectine (LM) et le monépantel (AADs) sont cependant encore efficaces dans ces élevages (Tableau 9).

Un FECR de -33.3% a été trouvé pour le fenbendazole (BZ) dans l'élevage D, cette molécule est donc totalement inefficace. En revanche, un FECR de 100% a été trouvé pour les lots traités par le lévamisole (IDZ), l'ivermectine (LM), la moxidectine (LM) et le monépantel (AADs). Cette observation suggère fortement que ces traitements sont encore efficaces dans cet élevage (Tableau 9).

Un cas de multirésistance au fenbendazole (BZ), au lévamisole (IDZ), à la moxidectine (LM) et au monépantel (AADs) a été mise en évidence dans l'élevage E ; en cause, des FECR inférieurs à 95% avec respectivement -150%, 25%, 92.5% et 92.5%. En revanche, les parasites restent toujours sensibles à l'ivermectine (LM) (Tableau 9).

Un défaut d'efficacité du fenbendazole (BZ) est observé dans les élevages F et G avec un FECR respectivement de 66.7% et de 84.6%. Un FECR de 84.6% a été trouvé pour le lévamisole (IDZ) dans l'élevage G, dans lequel on observe donc une résistance à deux molécules. Les autres antiparasitaires testés restent efficaces dans ces deux élevages (Tableau 9).

Ces résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous. Une résistance au fenbendazole a été observée dans tous les élevages testés Dans 4 élevages, une résistance au lévamisole (IDZ) a été mise en évidence. Enfin dans un même

élevage, des résistances à 4 molécules ont été identifiées par cette méthode : aux BZ, au lévamisole (IDZ), à la cydectine (LM) et au monépantel (AADs) (Tableau 9).

A	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydectine®	Zolvix®
	Résistance	Efficace	Efficace	Efficace	Efficace
B	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydectine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Efficace	Efficace	Efficace
C	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydectine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Efficace	Efficace	Efficace
D	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydectine®	Zolvix®
	Résistance	Efficace	Efficace	Efficace	Efficace
E	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydectine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Efficace	Résistance	Résistance
F	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydectine®	Zolvix®
	Résistance	Efficace	Efficace	Efficace	Efficace
G	Panacur®	Lévamisole 5%®	Oramec®	Cydectine®	Zolvix®
	Résistance	Résistance	Efficace	Efficace	Efficace

Tableau 10 : Statut de l'élevage vis-à-vis du traitement testé en coprologies de mélange

3.3 Corrélation entre coprologies individuelles et de mélange

Nous savons qu'il existe une forte corrélation entre les coprologies individuelles et les coprologies de mélange. En effet, une étude de 2014, a montré un coefficient de corrélation positif de 0.98 ($p=0.0005$) entre ces deux méthodes (Bonnetfond, Canellas, 2014). Cependant, elles avaient été réalisées dans le cadre de lots comprenant 15 individus.

Pour notre part, nous avons comparé les résultats obtenus entre la coprologie de mélange et la moyenne des coprologies individuelles pour 10 individus. Dans le cadre de notre étude, nous avons 98 séries (7 lots dans 7 élevages à J0 et à J14) de deux points (moyenne des 10 coprologies individuelles versus coprologie de mélange des 10 individus du lot).

Le coefficient de corrélation linéaire obtenu est de 0.97 avec une p -value < 0.0005 (Figure 11).

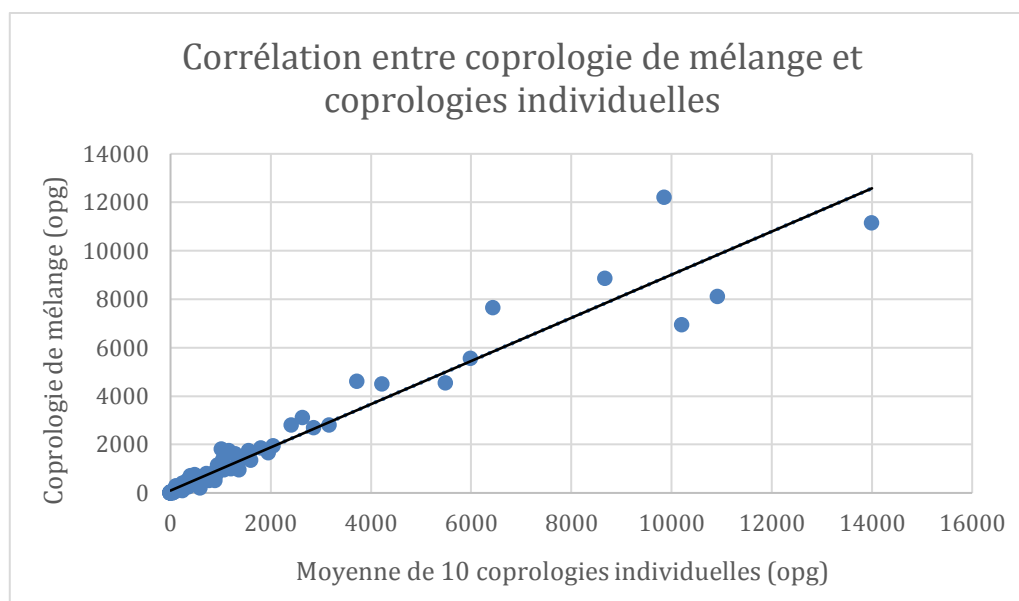


Figure 11 : Corrélation entre coprologie de mélange et coprologies individuelles

3.4 Corrélation entre pourcentages de réduction de l'intensité d'excrétion d'œufs obtenus par coprologies individuelles (selon les guidelines de la WAAVP) et obtenus coprologie de mélange

Afin de gagner du temps sur les manipulations en laboratoire, une approche par coprologies de mélange a été réalisée pour évaluer le coefficient de réduction d'excrétion fécale d'œufs de SGI après traitement (FECR). Cette méthode si elle est validée pourrait permettre d'alléger les manipulations, d'engendrer des frais moins importants, notamment pour les éleveurs, et le FECRT serait plus facilement réalisable en routine.

Ainsi nous obtenons 42 séries de 2 FECR (l'un obtenu par coprologies individuelles, l'autre par coprologies de mélange). Nous avons établi de la même façon que précédemment le coefficient de corrélation linéaire entre ces couples. Le coefficient de corrélation obtenue est de 0.855 avec une p-value < 0,0005 (Figure 12).

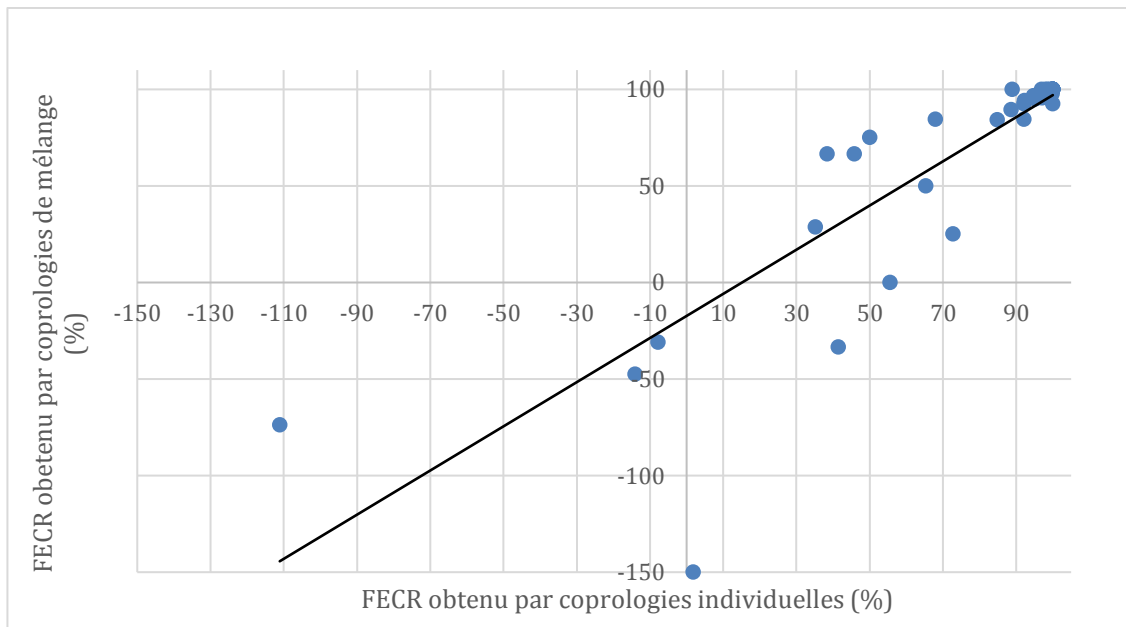


Figure 12 : Corrélation entre FECR obtenus par coprologie de mélange et coprologies individuelles

Il semble que les FECR obtenus selon les deux méthodes soient bien corrélés. Cependant, le but du FECRT est de donner le statut des SGI vis-à-vis du traitement anthelminthique que l'on souhaite.

Pour comparer les résultats, il est nécessaire d'écarter les lots où la résistance a été déclarée douteuse par coprologies individuelles. En effet, l'approche par coprologies de mélange nous permet de déclarer le statut de l'élevage que de façon dichotomique : sensible ou résistant.

De cette façon, nous obtenons 32 couples (en écartant les lots traités au closantel (SAL) et les 3 lots « douteux », dont 30 où l'on obtient le même résultat. Seuls 2 lots diffèrent. Dans l'élevage E, le FECR obtenu par coprologies individuelles donne un statut sensible au monépantel (AADs) alors que le FECR obtenu par coprologie de mélange indique le contraire. De même, dans l'élevage F, le FECR par coprologies individuelles indique une résistance au lévamisole (IDZ) alors que l'autre méthode indique une sensibilité (Tableau 11).

De cette manière on peut calculer le coefficient κ de Cohen qui mesure l'accord entre 2 tests (le test est considéré comme positif s'il détecte une résistance, comme négatif s'il ne la détecte pas). Il permet ainsi de comparer la nouvelle

méthode (coprologie de mélange) par rapport à une méthode de référence (coprologies individuelles), On obtient ainsi le tableau croisé suivant :

		FECR par coprologie de mélange	
		Positif	Négatif
FECR par coprologies individuelles	Positif	18	1
	Négatif	1	12

$$Se = 0.9474 [0.7397 ; 0.9987]$$

$$Sp = 0.9231 [0.6397 ; 0.9981]$$

$$\kappa = 0.8704 [0.69.67 ; 1.0]$$

Tableau 11 : Concordance des résultats FECR obtenus par coprologies individuelles et par coprologies de mélange

Suivant la table de Landis et Koch, on obtient un accord presque parfait entre les 2 tests, avec $\kappa > 0.81$ (Landis, Koch, 1977). La sensibilité est proche de 95% et la spécificité supérieure à 92%.

3.5 Culture larvaire

3.5.1 Comparaison entre le comptage larvaire manuel et la qPCR après coproculture

Suite à la coproculture, un comptage manuel pour chaque lot a été réalisé afin de le comparer aux estimations du nombre total de larves présentes dans la suspension larvaire obtenues par qPCR. En outre, le comptage permet d'identifier les échantillons à diluer, ceux présentant un trop grand nombre de larves pouvant être préjudiciables dans la réalisation de la qPCR. Il est admis qu'une trop grande quantité d'ADN peut inhiber la réaction.

Seuls les échantillons de L3 à J0 provenant de l'élevage A ont été dilués. En effet, le comptage manuel a mis en évidence une quantité de larve dix fois plus importantes dans ces échantillons comparativement à ceux des 6 autres élevages

avec 250 000 larves par mL. Ces échantillons ont donc été dilués par un facteur 10. Cette quantité importante de larves est en adéquation avec l'excrétion fécale d'œufs de SGI trouvée dans cet élevage.

Le rapport obtenu entre les deux comptages n'est pas de 1 mais reste proportionnel entre chaque lot. En moyenne, le rapport entre les 2 techniques est de 6. Il y a 6 fois « plus » de larves dans les échantillons obtenus par qPCR que par comptage manuel. La grandeur obtenue semble cohérente, l'intervalle de confiance à 95% étant resserré autour de la moyenne (figure 13).

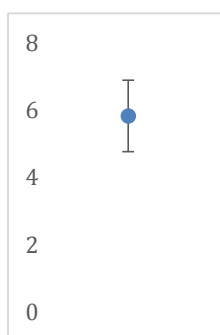


Figure 13 : Rapport entre le comptage par qPCR et le comptage manuel

De plus nous obtenons une forte corrélation entre les deux comptages avec un coefficient de corrélation linéaire de 0.94 et une p-value < 0.005 (figure 14).

Les résultats obtenus par comptage et par qPCR sont présentés dans l'Annexe 4.

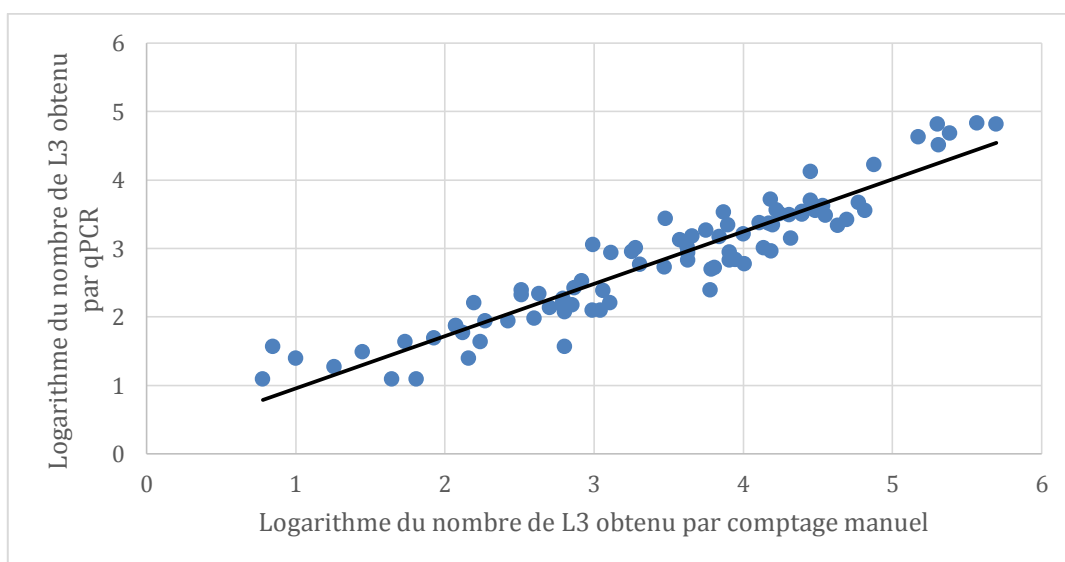


Figure 14 : Corrélation entre le comptage par qPCR et le comptage manuel

3.5.2 Identification et proportions relatives des espèces larvaires par qPCR

Le tableau suivant indique le nombre de larves L3 par mL trouvé dans chaque lot ainsi que les proportions relatives des 3 espèces majeures de strongles (*Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta* et *Trichostrongylus colubriformis*).

La moyenne des résultats de comptage de larves obtenue par qPCR chez les 7 lots à J0 de chaque élevage a été calculée. Elle permet d'approcher l'helminthofaune de chaque élevage à J0 (Tableau 12 et Figure 15). On peut voir que les proportions des espèces de parasites sont très différentes suivant les élevages.

Espèce de strongles	Helminthofaune des élevages à J0 (%)						
	Elevage A	Elevage B	Elevage C	Elevage D	Elevage E	Elevage F	Elevage G
<i>Haemonchus sp.</i>	96,76 [95,86 ; 97,71]	22,81 [17,69 ; 27,93]	16,01 [7,88 ; 24,13]	92,26 [87,91 ; 96,61]	68,83 [52,09 ; 85,57]	25,48 [0 ; 53,05]	1,53 [0,69 ; 2,36]
<i>Teladorsagia sp.</i>	0,19 [0,13 ; 0,24]	46,51 [36,18 ; 56,85]	7,80 [4,03 ; 11,57]	3,71 [0,37 ; 7,06]	12,31 [0,88 ; 23,73]	12,54 [0 ; 37,03]	10,34 [1,58 ; 19,09]
<i>Trichostrongylus sp.</i>	3,04 [2,16 ; 3,93]	30,70 [23,69 ; 37,71]	76,21 [66,81 ; 85,60]	4,03 [0 ; 8,17]	18,87 [0,56 ; 37,18]	61,99 [30,16 ; 93,82]	88,14 [76,52 ; 96,76]

Tableau 12 : Helminthofaune de l'élevage à J0

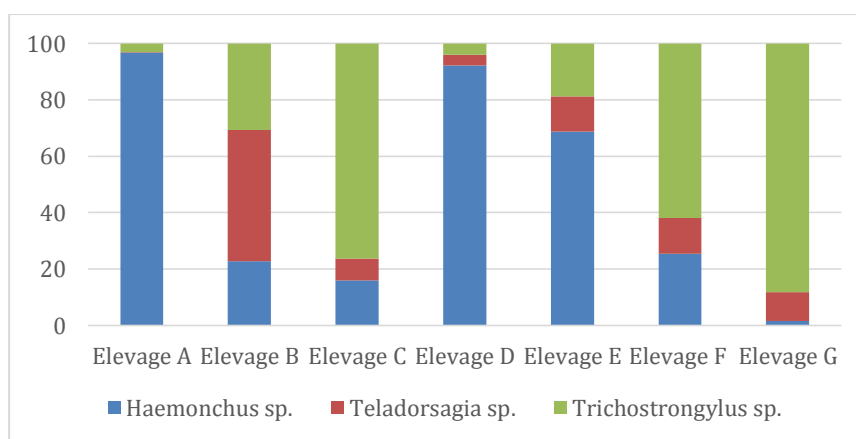


Figure 15 : Helminthofaune de l'élevage à J0

En comparant les proportions obtenues à J14 à celles de J0, on peut déterminer l'espèce ou les espèces résistantes, si une résistance a été trouvée à l'aide du FECRT. Ces résultats sont décrits dans le Tableau 13.

Lot	Résultat	Elevage A		Elevage B		Elevage C		Elevage D		Elevage E		Elevage F		Elevage G	
		J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14
Contrôle	Nombre de larves / mL dont (%) :	199697	28240	736	17446	397	1142	1902	1788	636	426	7	132	6912	5640
	<i>Haemonchus</i>	96,7	95,3	28,85	35,15	20,95	11,7	99,2	92,4	79,55	51,2	0	0	0,9	1,7
	<i>Teladorsagia</i>	0,25	0,25	22	25,7	0	9,8	0,8	5,8	3,95	48,8	100	0	25,3	34,4
	<i>Trichostrongylus</i>	3,05	4,5	49,15	39,15	79,05	78,5	0	1,8	16,45	0	0	100	73,8	63,9
Panacur® (fenbendazole)	Nombre de larves / mL dont (%) :	75154	16694	20238	15216	24766	3768	978	264	8104	4540	504	28	4238	828
	<i>Haemonchus</i>	95,1	75,2	17	18	3,5	4,7	82,4	78,8	74,6	57	0	0	2,1	0
	<i>Teladorsagia</i>	0,3	3,9	54,4	18,5	5,3	15,8	1,4	3	24,4	32,2	0	0	2,4	11,4
	<i>Trichostrongylus</i>	4,7	20,9	28,5	63,6	91,2	79,5	16,2	18,2	1	10,9	100	100	95,5	88,6
Lévamisole 5%® (lévamisole)	Nombre de larves / mL dont (%) :	496164	156	30478	24730	2030	64	1104	84	10172	186	6022	0	49290	7364
	<i>Haemonchus</i>	97,7	0	15	2	28,4	0	85,1	9,5	82,8	3,2	91,5	0	4,2	0
	<i>Teladorsagia</i>	0,2	17,9	61,1	26,5	18,1	56,3	14,9	47,6	3,6	19,4	0	0	0,8	8,4
	<i>Trichostrongylus</i>	2,1	82,1	24	71,5	53,5	43,8	0	42,9	13,6	77,4	8,5	0	95	91,6
Oramec® (ivermectine)	Nombre de larves / mL dont (%) :	242934	10	15756	710	8056	0	65452	16	13676	1294	6082	0	15334	172
	<i>Haemonchus</i>	98,5	100	17,1	47,9	1,2	0	95	0	73	83,5	87	0	0,8	0
	<i>Teladorsagia</i>	0,1	0	45,3	52,1	9,9	0	0,5	100	5,2	11	0,3	0	0,6	100
	<i>Trichostrongylus</i>	1,5	0	37,6	0	88,9	0	4,5	0	21,8	5,6	12,7	0	98,6	0
Cydectine® (moxidectine)	Nombre de larves / mL dont (%) :	203962	118	2960	608	14796	0	976	44	42908	118	4234	0	24940	18
	<i>Haemonchus</i>	97	0	16,5	0	28,5	0	96,9	0	92,1	0	0	0	0,4	33,3
	<i>Teladorsagia</i>	0,2	100	60,5	100	3,3	0	3,1	100	2	100	0	0	9,8	66,7
	<i>Trichostrongylus</i>	2,8	0	23	0	68,3	0	0	0	6	0	100	0	89,8	0
Zolvix® (monépantel)	Nombre de larves / mL dont (%) :	149486	0	9994	6	12794	0	1278	0	20882	0	618	0	35670	66
	<i>Haemonchus</i>	98,3	0	26,4	0	27,7	0	88,7	0	80,8	0	15,5	0	0,8	0
	<i>Teladorsagia</i>	0,1	0	51,2	100	9,6	0	1,6	0	8,7	0	0	0	3,9	0
	<i>Trichostrongylus</i>	1,6	0	22,5	0	62,7	0	9,7	0	10,5	0	84,5	0	95,3	100
Seponver® (closantel)	Nombre de larves / mL dont (%) :	367138	3014	34004	28132	6386	4198	8850	632	326	144	326	54	59196	7898
	<i>Haemonchus</i>	95,8	0	26,5	0	6,1	0	98,4	0	16,6	0	9,8	0	1,3	0
	<i>Teladorsagia</i>	0,1	10	51,9	35	6,4	1,1	1,6	43	1,8	0	0	0	5,5	16,7
	<i>Trichostrongylus</i>	4,1	90	21,7	65	87,5	98,9	0	57	81,6	100	90,2	100	93,2	83,3

Tableau 13 : Comptage larvaire et proportions relatives des 3 espèces de SGI

Pour les BZ, on observe que les trois espèces de strongles sont résistantes à cette famille de molécules dans 5 élevages sur 7. Il semblerait que *Teladorsagia circumcincta* soit résistant à la moxidectine (LM) dans l'élevage E. Dans l'élevage F, l'espèce responsable de la suspicion de résistance pour le monépanel (AADs) ne peut être identifiée car aucune larve n'a été trouvée à J14. L'identification larvaire permet cependant de conclure quant au statut de résistance pour le closantel (SAL). Etant donné que les 7 élevages ne présentent plus aucune larve d'*Haemonchus contortus* après le traitement au Seponver®, on peut raisonnablement affirmer que cette famille de molécule est encore efficace dans le traitement de l'haemonchose.

Elevage A						
Spécialité (molécule)	Panacur® (fenbendazole)	Lévamisole® (lévamisole)	Oramec® (ivermectine)	Cydecine® (moxidectine)	Zolvix® (monépanel)	Seponver® (closantel)
<i>Haemonchus</i>	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<i>Teladorsagia</i>	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	
<i>Trichostrongylus</i>	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	
Elevage B						
Spécialité (molécule)	Panacur® (fenbendazole)	Lévamisole® (lévamisole)	Oramec® (ivermectine)	Cydecine® (moxidectine)	Zolvix® (monépanel)	Seponver® (closantel)
<i>Haemonchus</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<i>Teladorsagia</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	
<i>Trichostrongylus</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	
Elevage C						
Spécialité (molécule)	Panacur® (fenbendazole)	Lévamisole® (lévamisole)	Oramec® (ivermectine)	Cydecine® (moxidectine)	Zolvix® (monépanel)	Seponver® (closantel)
<i>Haemonchus</i>	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<i>Teladorsagia</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	
<i>Trichostrongylus</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	
Elevage D						
Spécialité (molécule)	Panacur® (fenbendazole)	Lévamisole® (lévamisole)	Oramec® (ivermectine)	Cydecine® (moxidectine)	Zolvix® (monépanel)	Seponver® (closantel)
<i>Haemonchus</i>	Résistant	?	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<i>Teladorsagia</i>	Résistant	?	Sensible	Sensible	Sensible	
<i>Trichostrongylus</i>	Résistant	?	Sensible	Sensible	Sensible	

Elevage E						
Spécialité (molécule)	Panacur® (fenbendazole)	Lévamisole® (lévamisole)	Oramec® (ivermectine)	Cydecine® (moxidectine)	Zolvix® (monépanel)	Seponver® (closantel)
<i>Haemonchus</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<i>Teladorsagia</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Résistant	Sensible	
<i>Trichostrongylus</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	
Elevage F						
Spécialité (molécule)	Panacur® (fenbendazole)	Lévamisole® (lévamisole)	Oramec® (ivermectine)	Cydecine® (moxidectine)	Zolvix® (monépanel)	Seponver® (closantel)
<i>Haemonchus</i>		?	Sensible	Sensible	?	Sensible
<i>Teladorsagia</i>		?	Sensible	Sensible	?	
<i>Trichostrongylus</i>	Résistant	?	Sensible	Sensible	?	
Elevage G						
Spécialité (molécule)	Panacur® (fenbendazole)	Lévamisole® (lévamisole)	Oramec® (ivermectine)	Cydecine® (moxidectine)	Zolvix® (monépanel)	Seponver® (closantel)
<i>Haemonchus</i>	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
<i>Teladorsagia</i>	Résistant	Résistant	?	Sensible	Sensible	
<i>Trichostrongylus</i>	Résistant	Résistant	Sensible	Sensible	Sensible	

Légende : les cases grises correspondent à des données non disponibles (espèce en dehors du spectre d'action de la molécule, valable pour le Seponver®) ou non interprétables (absence de l'espèce considérée à J0).

Tableau 14 : Interprétation du statut résistant des espèces de strongles après qPCR

4 **Discussion**

4.1 *Le FECRT*

4.1.1 L'importance du nombre d'individus et de l'excrétion fécale avant traitement

La validité du FECRT est conditionnée par le nombre d'individus dans chaque lot ainsi que par l'intensité d'excrétion fécale d'œufs de strongles. Un minimum de 10 individus ainsi qu'un comptage d'au moins 150 opg sont requis. La technique coprologique utilisée est celle de McMaster modifiée et proposée par Raynaud en 1970. La sensibilité de cette technique dépend de la méthode de lecture des cellules de la lame de McMaster. Ainsi lorsque que l'on compte l'ensemble des œufs présents dans les 2 réseaux de la lame, on obtient une sensibilité de 50 opg, c'est-à-dire qu'un œuf comptabilisé donne une excrétion de 50 œufs par gramme de fèces. Si l'ensemble des deux chambres de la lame sont lues, on obtient une sensibilité de 15 opg.

Malheureusement, même si des coprologies ont été réalisées sur quelques individus de l'élevage avant la réalisation du test, afin de s'assurer d'une FEC moyenne suffisante, certains lots présentaient des individus excrétant moins de 150 opg. Les coprologies se faisant en laboratoire et non sur place à la ferme, certains individus ont dû être écartés pour le calcul du FECR menant à des lots inférieurs à 10 ovins. Nous avons tenté de pallier en partie cette éventualité, en prélevant davantage de brebis par lot (11 ou 12) dans certains élevages. Or ceci n'était pas possible dans toutes les structures qui ont accepté de participer. Ainsi, dans les cas où les lots inclus dans les calculs de FECR sont inférieurs à 10, les résultats doivent être interprétés avec précaution. Le nombre d'individus intervient dans la formule de l'intervalle de confiance à 95%, plus ce nombre est faible, plus grand sera l'intervalle de confiance. Etant donné que l'intervalle de confiance est pris en compte dans la l'estimation de l'efficacité d'un anthelminthique dans un élevage donné, il est important d'interpréter les résultats en tenant compte de ce paramètre. C'est sûrement le cas pour les lots douteux des élevages F et G pour lesquels les FECR

sont supérieurs à 95% mais avec des bornes inférieures de l'intervalle de confiance en dessous de 90%. Si nous regardons les nombres d'individus dans ces 2 lots, ils sont respectivement de 7 et de 8 ce qui peut influencer le résultat.

4.1.2 L'âge moyen du lot

Les guidelines nous indique de prendre un lot homogène d'agnelles de première pâture. L'intérêt réside dans le fait que ces agnelles sont naïves vis-à-vis des SGI. Etant donné qu'elles n'ont pas encore développé de défenses immunitaires, elles ont souvent des excrétions fécales d'œufs plus importantes.

Le statut physiologique des animaux peut aussi être pris en compte, notamment autour de l'agnelage où le phénomène « periparturient rise » s'observe. De cette manière, on peut s'attendre à avoir des lots homogènes en termes d'intensités d'excrétion d'œufs de strongles dans les matières fécales.

En élevage, nous étions dépendants des lots que les éleveurs mettaient à notre disposition pour la réalisation de l'étude. Ainsi nous nous sommes assurés de répartir les individus en fonction de leur année de naissance (facilement obtenue à l'aide de leur numéro d'identification national). Ce qui était davantage indépendant de notre volonté en revanche, restait la moyenne d'âge des animaux testés entre les différents élevages. Malheureusement, nous n'avons pas pu avoir des lots composés uniquement d'agnelles de première pâture. Mais en comparant le niveau d'excrétion des quelques agnelles présentes dans chaque lot à l'excrétion fécale d'œufs des brebis plus âgées, aucune différence significative n'a été trouvée (Annexe 14). Finalement, l'excrétion fécale d'œufs semble être peu corrélée à l'âge de l'animal dans notre étude. Globalement, nous avons des lots pour lesquels les brebis ont une moyenne d'âge d'environ 3,4 ans [2.5 – 4]. Comme on peut le voir sur la figure ci-dessous, la moyenne d'âge reste équilibrée entre chaque lot dans chaque élevage, même-si cela est à nuancer pour l'élevage E.

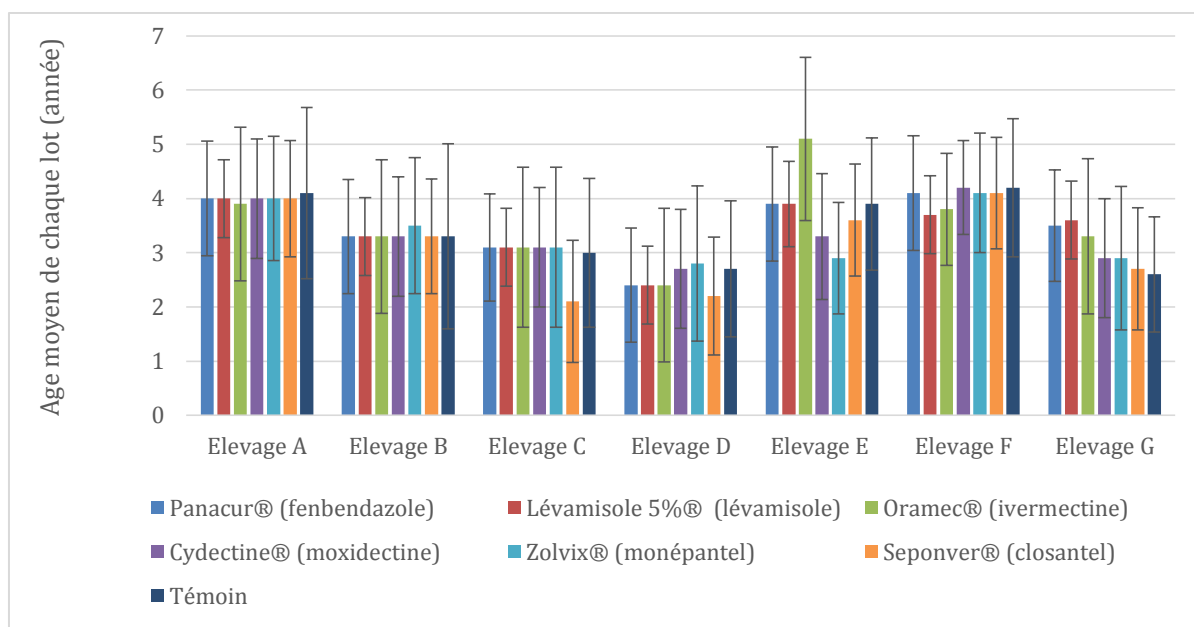


Figure 16 : Age moyen de chaque lot par élevage

4.1.3 La formule du FECR utilisée

En 1992, la WAAVP a approuvé l'utilisation de la formule utilisée dans notre étude, comme méthode de calcul normalisée du FECR (Coles et al., 1992). Cependant, beaucoup d'auteurs ont critiqué cette formule, notamment sur l'utilisation d'une moyenne arithmétique ou l'absence de prise en compte des FEC prétraitements. Actuellement, aucun consensus n'est admis sur la méthode de calcul à utiliser.

Globalement, les résultats obtenus par les différentes formules de FECR semblent indiquer qu'elles détectent un nombre similaire de cas de résistance aux anthelminthiques et suggèrent que les formules les plus simples peuvent être utilisées en routine (McKenna, 2006). Afin que l'analyse des résistances en élevage soit de plus en plus réalisée, le FECRT doit être accessible et aussi simple que possible. L'application de la formule proposée par la WAAVP a l'avantage de présenter le meilleur accord avec les autres formules et de ne pas inclure les lots prétraitements dans son calcul. De cette manière, elle apparaît moins laborieuse et plus acceptable auprès des éleveurs, tout en présentant l'avantage de prendre en compte le lot contrôle. Cependant, il a été montré que l'utilisation de cette formule pouvait mener à une sous-estimation de l'efficacité de la molécule, lorsque de

nombreuses intensités d'excrétion d'œufs sont inférieures à 150 opg dans le lot prétraitement (Dobson et al., 2009). Il est donc important d'analyser les échantillons à J0, afin d'écarter du test tous les individus présentant une excrétion fécale d'œufs trop faible.

En revanche, lorsque l'efficacité du médicament varie entre 90% et 95% (soit la zone douteuse), les formules FECR peuvent donner des résultats différents (Miller et al., 2006). Dans ce cas-là, l'application d'une formule prenant en compte les FEC à J0 du lot traité et du lot contrôle permet de confirmer que tous les changements observés chez les animaux traités sont effectivement dus uniquement au traitement et non aux variations naturelles d'excrétion fécale d'œufs dans le temps. Cela peut être le cas dans notre étude notamment pour les lots douteux ivermectine (LM), lévamisole (IZD) ou moxidectine (LM) ou lorsqu'une résistance a été trouvée pour des FECR élevés, proche de 90%.

En appliquant la formule suivante qui prend en compte tous les lots, on obtient des résultats différents :

$$FECR = 100 \times \left[1 - \left(\frac{T_2}{T_1} \times \frac{C_1}{C_2} \right) \right]$$

En effet, on observe que les statuts dits douteux, vis-à-vis de l'efficacité de certains anthelminthiques, retrouvés dans les différents élevages (lévamisole (IZD) dans l'élevage D, monépanel (AADs) dans l'élevage F et ivermectine (LM) dans l'élevage G) sont déclarés sensibles avec cette formule (Annexe 15). De même, certains lots qui ont des FECR proches de 90% dans lesquels les parasites sont résistants sont considérés sensibles avec la seconde formule. C'est notamment ce que l'on observe pour l'élevage F et G (88.9% et 92.1% respectivement) dans lesquels les parasites sont résistants au lévamisole (IZD).

Le Tableau 15 suivant permet de comparer les résultats du statut de l'élevage en fonction des formules utilisées.

Lot	Elevage A		Elevage B		Elevage C		Elevage D	
	FECR 1	FECR 2	FECR 1	FECR 2	FECR 1	FECR 2	FECR 1	FECR 2
Panacur® fenbendazole	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant
Lévamisole 5%®	Non résistant	Non résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Douteux	Douteux	Non résistant
Oramec® ivermectine	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant
Cydecetine® moxidectine	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant
Zolvix® monépantel	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant

Lot	Elevage E		Elevage F		Elevage G	
	FECR 1	FECR 2	FECR 1	FECR 2	FECR 1	FECR 2
Panacur® fenbendazole	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant	Résistant
Lévamisole 5%®	Résistant	Résistant	Résistant	Douteux	Résistant	Douteux
Oramec® ivermectine	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Douteux	Non résistant
Cydecetine® moxidectine	Résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant	Non résistant
Zolvix® monépantel	Non résistant	Non résistant	Douteux	Non résistant	Non résistant	Non résistant

Tableau 15 : Comparaison du statut de l'élevage en fonction de la formule FECR utilisée

4.2 Efficacité des anthelminthiques

4.2.1 Fenbendazole (BZ)

Lors de cette étude, une résistance au fenbendazole a été observée dans les 7 élevages participants. Les valeurs du FECRT s'échelonnent entre 1,8% et 89,5%, ce qui représente les taux de réduction les plus faibles obtenus comparativement aux 5 autres molécules testées. Cela implique que les populations de strongles ont

presque toutes acquis les gènes de résistance aux BZ, il ne reste parfois plus de populations sensibles. La résistance aux BZ est connue depuis plusieurs décennies en France et nous savons que sa prévalence est élevée. Les éleveurs d'eux-mêmes, par expérience ou par connaissance, n'utilisent plus le Panacur® ou autres produits contenant des BZ pour traiter les brebis contre les strongles. En revanche, ils utilisent encore le nétobimin (Hapadex®) qui est un pro-benzimidazole ou encore l'albendazole (BZ, Valbazen®) pour traiter d'autres parasitoses, notamment la petite douve, *Dicrocoelium lanceolatum*. Même si les cibles du traitement ne sont pas les SGI, ces traitements participent aux phénomènes de sélection d'individus résistants.

L'élevage A, qui tend à devenir un élevage biologique, utilise très peu de traitements de synthèse. Or on observe que c'est l'élevage où le FECR est le moins alarmant à 88,7% pour un intervalle de confiance à 95% de [72,9 ; 95,3]. Ces résultats amènent à penser qu'une utilisation raisonnée des traitements anthelminthiques permettrait une évolution bien plus lente de la résistance. Bien que l'élevage soit donné résistant au fenbendazole (BZ) suite à la réalisation du test, le traitement a tout de même permis une réduction de 5995 opg à 730 opg en moyenne, ce qui n'est pas négligeable. De plus, c'est un élevage récent qui a débuté il y a 5 ans. Les parcelles à l'origine servaient aux pâturages de bovins et non d'ovins. Etant donné, qu'ils utilisent peu de molécules de synthèses, il est possible que l'entrée de la résistance dans l'élevage se soit faite par l'achat d'animaux lors de la constitution du cheptel, un des facteurs de risque décrit en Partie 2.

4.2.2 Lévamisolé (IZD)

Le lévamisolé (IZD) est également une molécule dont le statut semble préoccupant à la vue des résultats de l'étude. En effet, seul l'élevage A n'a pas présenté de résistance à cette molécule. Un statut douteux a été retrouvé dans l'élevage D. Cependant, ces résultats sont à nuancer notamment pour les élevages D, F et G pour lesquels les FECR retrouvés sont proches de 90%. Comme vu précédemment, l'application de la formule incluant les lots avant traitement atténuent les signes d'alerte observés.

De plus, l'efficacité du lévamisolé (IZD) est limitée sur les stades immatures (larves L4 en développement chez l'animal) ce qui peut entraîner des résultats

faussement positifs lorsque les coprologies post-traitements sont réalisées au-delà de J11, par le développement de ces larves. La confirmation définitive de la résistance devra passer par une infestation expérimentale d'animaux, suivi de bilans parasitaires.

Mais il ne s'agit pas de minimiser les résistantes. La situation du lévamisole (IZD) risque très clairement de devenir préoccupante dans les années à venir. Cette molécule possédant un spectre étroit, efficace seulement contre les SGI et les strongles pulmonaires, il est facile de l'écarter de l'arsenal thérapeutique des élevages où une résistance au lévamisole a été mise en évidence. Mais elle reste à utiliser de manière raisonnée dans les élevages où les populations de SGI restent sensibles.

4.2.3 Ivermectine (LM)

La résistance aux lactones macrocycliques préoccupe de nombreux pays et s'étend en France comme le montre les dernières études. Dans notre cas, les populations de SGI y restent sensibles dans 6 élevages sur 7. En revanche un statut douteux a été mis en évidence dans l'élevage E. Cependant, en réalisant les calculs à l'aide de la formule prenant en compte non seulement, le lot témoin à J14 mais également à J0 et le J0 du lot testé (Partie 3, 4.1.3), on obtient un statut sensible à l'ivermectine dans cet élevage. Nous n'avons donc pas trouvé de résistance franche à l'ivermectine dans notre étude. Mais le statut douteux d'un élevage avec l'une des méthodes de calcul de FECR, ainsi que les résultats dans certains autres élevages inférieurs à 100 (97,4% au minimum) doit nous mettre en garde contre une résistance pouvant apparaître ou étant déjà en train de se mettre en place. En effet, rappelons que le FECRT n'est pas un test sensible à 100% : la détection de la résistance étant très tardive (Papadopoulos, 2008).

4.2.4 Moxidectine (LM)

Les SGI semblent encore sensibles à la moxidectine (LM) dans la majorité des élevages qui l'utilisent, à la même fréquence que les autres molécules avec lesquelles ils alternent. Dans 6 élevages sur 7, les résultats sont donc satisfaisants.

En revanche, on observe une résistance dans l'élevage E pour le moment débutante, avec un FECR de 92,1 % mais un intervalle de confiance dont la borne inférieure est très basse à 41,8%. Si l'on fait confiance à ce résultat, une explication plausible serait l'utilisation quasi unique de la moxidectine (LM) dans cet élevage, dans sa formulation longue action, qui sélectionne davantage les individus résistants.

Néanmoins, ce résultat illustre une des limites de la formule utilisée pour le calcul du FECR, recommandée par les guidelines. En effet, elle ne compare que le groupe témoin à J14 avec le groupe souhaité à J14. Or dans notre cas, l'intensité d'excrétion fécale d'œufs n'est pas homogène entre les lots à J0 et le lot témoin à J14. En effet la moyenne des FEC du lot témoin à J0 est de 862,5 opg et de 606,75 opg à J14. Or la moyenne des FEC du lot Cydectine® à J0 est bien supérieure : 1606,25 opg. Une moyenne de FEC de 47,5 opg à J14 pour ce lot paraît donc faible par rapport au même lot à J0 mais trop importante par rapport au lot témoin. Or lorsque l'on effectue le calcul du FECR en utilisant la seconde formule, qui prend en compte le lot témoin et le lot test à J0 et à J14, la moxidectine (LM) reste efficace. Une non-homogénéité des lots en matière d'intensité d'excrétion d'œufs est toujours possible car les brebis sont choisies aléatoirement. Cette variable est une limite à l'utilisation de la formule dictée par le guidelines.

Nous pouvons donc conclure que la moxidectine (LM) est encore efficace dans les élevages testés mais qu'une utilisation massive et systématique dans l'élevage E de la Cydectine® Longue Action mènera sans nul doute, à plus ou moins long terme, à une population de strongles résistants.

4.2.5 Monépantel (AADs)

Le monépantel (AADs) est la dernière molécule mise sur le marché en France. Son efficacité est proche de 100% dans 6 élevages sur 7 (FECR de 100% dans 3 élevages et supérieur à 99,8% dans les 3 autres) (Tableau 7). Ces résultats sont très satisfaisants mais signifient tout de même qu'une infime quantité de vers a résisté. De plus, nous avons obtenu dans l'élevage F un statut douteux imputable à une borne inférieure de l'intervalle de confiance inférieur à 90% (85,3%). Cependant, le lot Zolvix® de cet élevage n'a malheureusement pu être représenté pour les calculs du FECR, que de 7 individus, ce qui diminue la sensibilité du test. D'autre part, ce

résultat est la conséquence d'une FEC d'un individu à J14 de 30 opg. C'est-à-dire qu'aucun œuf n'a été retrouvé dans les deux réseaux de la lame de McMaster, mais que 2 œufs ont été trouvés en vérifiant les chambres. Or ces deux œufs présentaient une anomalie morphologique comparativement aux œufs habituellement observés. Leurs parois abimées suggèrent qu'ils n'étaient pas viables.

En suivant le même raisonnement que le paragraphe précédent sur la moxidectine (LM), concernant les lots traités à J0 et l'homogénéité des intensités d'excrétion d'œufs entre les différents lots, et en utilisant la seconde formule on obtient un FECR de 98,6% et un intervalle de confiance de [97.5 ; 99.3] et donc un statut efficace pour le monépanel (AADs) (Annexe 15).

Ce qui semble également étonnant est que cette molécule n'ait jamais été utilisée au sein de l'élevage E auparavant ni dans aucun autre élevage de l'étude dont le FECR était inférieur à 100%. Néanmoins, il ne faut pas oublier que le pâturage commun, la vente ou l'achat d'animaux parasités, fait entrer avec les animaux, des populations de strongles possiblement résistants dans les élevages.

4.2.6 Closantel (SAL)

Comme décrit précédemment, le closantel (SAL) n'agit que sur les strongles hématophages, c'est-à-dire dans notre étude qu'il n'est efficace que sur *Haemonchus contortus*. D'autres espèces de strongles pouvant être présentes au moment du comptage coproscopique, c'est la qPCR qui nous indique la présence ou l'absence de cette espèce à J14 et donc le statut résistant d'*H. contortus* vis-à-vis de cette molécule dans les différents élevages. Or, aucune larve de cette espèce n'a été retrouvée dans les lots traités au closantel à J14. On peut affirmer qu'aucune population d'*H. contortus* ne présente de résistance au closantel (SAL) dans les élevages étudiés.

Dans le cas où une infestation majoritaire par *Haemonchus contortus* serait présente en élevage (visible notamment grâce à l'index Famacha®, voir Partie 1, 5.2.3), l'utilisation du closantel (SAL) peut se montrer intéressante car elle ciblera seulement cette espèce, sans exercer de pression de sélection sur les autres espèces de strongles.

4.2.7 Conclusion sur les résultats obtenus

D'après les résultats obtenus dans nos élevages, il est indispensable de reconsidérer les pratiques anthelminthiques face à l'émergence de résistance. Pour y parvenir, il est nécessaire de diminuer le nombre de traitements réalisés chaque année, préférer un traitement ciblé et sélectif tout en gardant une population refuge la plus grande possible. Les analyses coprologiques sont d'un grand intérêt dans la prise de la décision du traitement et permettraient d'évoluer vers une utilisation raisonnée des anthelminthiques. Les molécules utilisées doivent être alternées dans la même année, afin d'éviter une pression de sélection trop importante sur les strongles. Dans cette démarche, il est également conseillé d'éviter d'utiliser les molécules présentant une efficacité diminuée ou pour lesquelles une résistance a d'ores et déjà été démontrée. Cependant, face à ces recommandations, une limite a été soulevée par les éleveurs. Les familles de molécules utilisées contre les SGI sont également efficaces contre d'autres parasitoses et sont parfois les seuls traitements encore efficaces contre ces autres maladies. C'est le cas du néobimin (Pro-BZ) utilisé contre *Dicrocoelium lanceolatum* (la petite douve), ou de la doramectine (LM) utilisée contre *Psoroptes ovis* (responsable de la gale ovine). Même si au moment du traitement les éleveurs ne pensent pas cibler les SGI, la sélection d'individus résistants s'effectue grâce à leur activité strongylicide. Il faut donc également prendre en compte dans le planning de traitement, toutes les molécules à activité strongylicide administrées au troupeau. L'arsenal thérapeutique restant devient alors de plus en plus réduit. De plus, de nombreux éleveurs pensent traiter plusieurs espèces de parasites avec un seul traitement. Au vu de la prévalence actuelle des résistances aux BZ, un traitement contre la petite douve ne représente plus un traitement efficace contre les SGI en élevage ovin. Le coût des différents traitements risque de peser de plus en plus lourd dans la balance des dépenses en élevage. Rationnaliser les traitements anthelminthiques, envisager des méthodes alternatives, améliorer la gestion de pâturage etc. sont des pratiques qui vont désormais devoir être mise en place en élevage pour faire face à la montée de la résistance des SGI.

4.3 Coprologie de mélange vs individuelle

Lors de cette étude, nous avons réalisé pour chaque lot de 10 individus des coprologies individuelles et des coprologies de mélange. Dans les calculs du FECRT, seuls les individus excréant plus de 150 opg ont été retenus. Cependant, nous avons tout de même comparés nos résultats de FEC par la méthode individuelle et de mélange, pour les 10 individus de chaque lot, même ceux excréant peu. Des résultats similaires avaient déjà été obtenus pour 10 individus en 2005, qui montraient une bonne corrélation entre la réalisation d'une coprologie de mélange et des coprologies individuelles ($r = 0.97$, $p < 0.001$) (Morgan et al., 2005). Même si il ne s'agit pas du but de notre étude, nous voulions vérifier si nous pouvions retrouver les mêmes résultats. En effet, nous avons obtenu un coefficient de corrélation linéaire de 0,97 semblable à celui déjà obtenu en comparant ces deux méthodes. Ces résultats confortent l'idée que réaliser une coprologie de mélange de 10 individus donne un résultat représentatif du statut parasitaire d'un lot donné. Finalement, afin d'estimer le statut parasitaire du troupeau, des coprologies sont recommandées, mais face au coût important pour les éleveurs de ces manipulations, les coprologies de mélange sont envisageable avec 10 ou 15 individus dans le mélange.

En revanche, afin d'obtenir un résultat statistiquement plus précis, nous aurions pu réaliser pour un même lot, une moyenne de plusieurs coprologies de mélange (soit à partir d'un mélange unique associé à plusieurs comptage d'œufs sur lame de McMaster, soit en réalisant à partir des mêmes échantillons de selles, plusieurs mélanges de fèces de chaque individu). Malheureusement, ces manipulations étant chronophages nous n'avons pu les réaliser face au nombre important de prélèvements à analyser en 48 heures après chaque visite.

Il est important également de noter que la majorité des éleveurs nous ont indiqué réaliser le mélange eux-mêmes dans un sac plastique avant envoi au laboratoire lorsqu'ils ont des analyses de routine à faire. Or, en procédant de cette façon, les proportions de fèces de chaque individu ne sont pas équilibrées et le mélange des fèces n'est pas homogène. Pour obtenir un résultat significatif en coprologie de mélange, il est primordial de respecter les pratiques décrites dans la

Partie 1, 5.1.1. Les éleveurs doivent envoyer des échantillons d'un certain nombre de brebis en sachet individuel et non déjà pré-mélangé.

Une des limites de la coprologie de mélange est l'obtention d'un FEC moyen du lot concerné. Ainsi il est plus difficile de réaliser un traitement ciblé avec cette méthode car il est impossible de savoir quel est l'animal qui excrète le plus dans le lot. L'éleveur se voit alors obligé de traiter tout le lot alors que par la nature sur-dispersée des parasites, seuls quelques animaux pourraient être traités. Dans ce cas-là, la clinique de l'animal doit être davantage prise en considération pour réaliser le traitement anthelminthique.

4.4 Coprologie de mélange dans la réalisation du FECRT

Comme il l'a déjà été montré dans le paragraphe précédent, une forte corrélation a été trouvée entre la réalisation d'une coprologie de mélange et de coprologies individuelles pour le même nombre d'animaux afin de déterminer l'excrétion fécale moyenne d'œufs d'un lot donné. Cette corrélation pourrait représenter un atout majeur dans la réalisation du FECRT, car elle permettrait de gagner un temps considérable dans les manipulations à réaliser en laboratoire pour le calcul du FECR. Une étude réalisée sur des bovins, publiée en 2017, a montré une forte corrélation entre les FECR trouvées par les deux méthodes ($r_s = 0.9282$) ainsi qu'un coefficient de concordance de Lin égale à 0.9586 mettant en évidence une concordance substantielle (>0.95) entre ces deux méthodes. Fait important, cette concordance a été établie sur des anthelminthiques présentant une large gamme d'efficacité (FECR) entre -29.2% et 100%. Ces résultats pourraient être alors appliqués en élevage ovin. Malheureusement, la formule utilisée dans cette étude ne correspond pas aux guidelines dictées par la WAAVP en 1992, aucun lot contrôle n'étant pris en compte (Coles et al., 1992).

Notre étude se base sur le même principe mais en appliquant la formule du FECR tenant compte des lots traité et contrôle post-traitement, comme indiqué dans les guidelines. Le même principe a été utilisé pour déterminer la formule du FECR obtenu par coprologie de mélange. Un coefficient de corrélation égal à 0.855 a ainsi été obtenu. De plus, le coefficient κ de Cohen qui mesure l'accord entre la nouvelle méthode et la méthode « de référence » est de 0.8704 indiquant un accord presque

parfait entre les 2 tests, toujours sur une large gamme d'efficacité des anthelminthiques. Ces résultats pourraient largement être améliorés par la détermination d'un intervalle de confiance à 95% pour le FECR obtenu par coprologie de mélange. En effet, dans ces circonstances, il est difficile d'interpréter significativement les résultats obtenus lorsque le FECR est situé dans la zone 90-95%. Une des solutions serait de réaliser dans une prochaine étude une moyenne de plusieurs FECR obtenus par coprologie de mélange pour un même lot afin de déterminer si le résultat observé est reproductible.

Le gain de temps serait considérable par cette méthode. Pour notre étude, 980 coprologies individuelles ont été pratiquées pour réaliser un FECRT sur 6 produits anthelminthiques avec des lots de 10 individus dans 7 élevages. Seulement 98 coprologies de mélange seraient à réaliser pour obtenir un résultat très proche.

4.5 Coproculture

La coproculture est une étape importante dans la réalisation de l'identification moléculaire des espèces présentes par qPCR. Elle permet le développement des œufs jusqu'au stade larvaire L3, l'identification moléculaire se réalisant sur ce stade-là. Cependant, les paramètres influençant le développement larvaire sont nombreux comme l'hygrométrie et la température. Chaque espèce nécessite des conditions particulières pour assurer un développement optimal. Comme illustré dans la 1^{ère} partie, une température proche de 20°C sera plus favorable au développement de *Teladorsagia circumcincta* que d'*Haemonchus contortus* dont la zone de confort est davantage comprise autour de 30°C. Un compromis est donc nécessaire pour assurer le développement des 3 espèces de strongles recherchées. Une température de 24°C (+/- 1°C) a été retenue pour réaliser l'incubation des œufs (O'Connor et al., 2006). Cependant, il est probable qu'une espèce soit favorisée par rapport à une autre durant l'incubation à cette température. En conséquence, les proportions obtenues par qPCR peuvent ne pas refléter totalement la réalité et ne pas être fidèles aux proportions des espèces lors de l'excrétion des œufs dans les matières fécales. Mais les coprocultures ayant été toutes réalisées dans les mêmes conditions, nous pouvons admettre que ces dernières ont influencé chaque lot de

manière identique. Ainsi, les différences observées entre un même lot à J0 et à J14 sont *a priori* indépendantes des conditions d'incubation.

Nous avons observé lors du comptage larvaire, une différence entre les résultats obtenus manuellement et ceux obtenus avec la qPCR. Cependant le rapport obtenu entre les différents résultats reste proportionnel entre chaque lot. Cet écart peut provenir de l'homogénéisation de l'échantillon, du calibrage de la pipette de prélèvement, d'une erreur de comptage manuel, etc.

4.6 Intérêt de la PCR temps réel

Les lots J14 dans lesquels aucune larve n'a été trouvée suite à la qPCR correspondent aux lots où les anthelminthiques ont été les plus efficaces et s'accordent aux FEC trouvés précédemment. En revanche, il ne faut pas sur-interpréter les résultats et parler de résistance lors du comptage et de l'identification larvaire. Le statut des parasites vis-à-vis de la résistance est donné uniquement par le FECRT. Ce dernier nous permet de dire qu'une (ou plusieurs) espèce de strongles digestifs est résistante à un anthelminthique donné sans pour autant en incriminer une en particulier. Par le dénombrement des larves en PCR temps réel, nous pouvons seulement identifier les espèces mises en cause dans la résistance. Par exemple, si une espèce était présente à J0 mais n'est pas retrouvée à J14 on peut émettre l'hypothèse que cette dernière est sensible au traitement utilisé.

A l'aide de l'identification moléculaire et du comptage, il est ainsi possible d'identifier les espèces responsables de la résistance pour le traitement considéré.

Ainsi comme il a été vu dans le tableau 14, les 3 espèces de strongles semblent être résistantes au fenbendazole (BZ). Mais au moins une souche d'*Haemonchus contortus* apparaît encore sensible aux BZ, dans l'élevage G, car aucun parasite n'a été retrouvé à J14. Nous ne pouvons rien conclure pour *Haemonchus contortus* et *Teladorsagia circumcincta* dans l'élevage F, car ils n'étaient pas présents dans le lot testé à J0.

Pour le lévamisole (IZD), les espèces qui semblent être résistantes sont *Teladorsagia circumcincta* ainsi que *Trichostrongylus colubriformis*. A partir du FECRT qui a mis en évidence une résistance à cette molécule dans les élevages concernés, l'identification larvaire a montré que ce sont ces deux espèces qui étaient

majoritaires à J14. Cependant, un doute est à émettre pour *Haemonchus contortus*. En effet, quatorze jours plus tard, celui-ci se retrouve en proportion nettement moins importante qu'initialement (par exemple : 85.1% de l'helminthofaune à J0 et « seulement » 9.1% à J14 dans l'élevage D ou encore 82.8% versus 3.2% dans l'élevage F). Cela peut être le signe qu'*Haemonchus contortus* est en cours d'acquisition des gènes de résistance au lévamisole (IZD).

Ce qui est intéressant à noter est que pour les 2 lots présentant une résistance ou un statut douteux aux LM, uniquement une espèce a été identifiée à J14 alors que très faiblement présente initialement dans les 2 lots. Il s'agit de *Teladorsagia circumcincta*. Ces observations concordent avec des résultats déjà obtenus dans d'autres études. En effet, Paraud en 2016 ainsi que Eichstadt en 2017 ont soulevé la présence d'une ou de plusieurs populations de *Teladorsia circumcincta* résistantes à la moxidectine (LM) et à l'ivermectine (LM).

Evidemment, il est davantage aisé d'interpréter les résultats obtenus pour les BZ comparativement aux autres molécules. Le FECRT est d'autant plus sensible et spécifique que la prévalence initiale de la résistance est élevée.

Pour les résistances au lévamisole (IZD) ou aux LM, une infestation expérimentale d'animaux puis des bilans parasitaires sont nécessaires pour confirmer les résultats observés. Cependant ces résultats sont le signe d'une possible résistance naissante et de l'apparition possible de parasites multi-résistants. En effet, plusieurs élevages possèdent une population de parasites résistants à plusieurs familles de molécules. Il reste à déterminer si ces gènes de résistances sont portés par la même population d'helminthes ou dans le meilleur des cas si ce sont 2 sous-populations distinctes qui résistent à deux familles de molécules. Dans le deuxième cas, un traitement combiné des deux familles de molécules concernées devraient annuler la résistance observée.

Comme nous pouvons le voir, l'intérêt majeur de la qPCR réside dans l'identification et le comptage rapide des larves dans les échantillons collectés. Réaliser une étude morphologique des SGI demande l'intervention d'une personne expérimentée et est fortement chronophage. De plus, il est facile de se tromper dans l'identification des espèces tant certaines se ressemblent au stade L3.

Actuellement, il est raisonnable de penser que les outils moléculaires sont les outils les plus adaptés et les plus précis afin de déterminer et de quantifier les espèces présentes dans un échantillon. De nouvelles technologies comme les PCR multiplex sont en cours d'optimisation pour gagner encore plus de temps sans perdre en sensibilité et en spécificité.

CONCLUSION

L'apparition de strongles gastro-intestinaux résistants aux anthelminthiques est un phénomène inhérent à l'utilisation de ces molécules. De nombreux pays grands producteurs d'ovins en pâtissent, l'arsenal thérapeutique devenant de plus en plus restreint. Il est donc important de détecter tôt l'apparition de ces résistances afin de limiter l'utilisation de ces molécules et de maintenir une population refuge la plus grande possible, assurant la conservation de strongles sensibles.

Cette étude réalisée en grande partie en Haute-Vienne montre que ce bassin de production ovine n'est pas épargné. Tous les élevages testés ont montré une résistance avérée au fenbendazole (BZ) et une majorité semble présenter une résistance au lévamisole (IZD). Le statut des benzimidazoles (BZ) est déjà largement connu en France, ces résultats viennent corroborer l'aggravation de la situation. En revanche, la résistance au lévamisole (IZD) est davantage préoccupante car beaucoup moins décrite en Europe ; une confirmation de la résistance par une infestation expérimentale serait à envisager. Depuis le premier cas avéré en 2014 de résistance aux lactones macrocycliques en France, la situation semble se dégrader avec la description de plusieurs cas dans différentes régions. Notamment dans notre étude, une suspicion de résistance à la moxidectine (LM) a été émise. Ainsi, il est indispensable de repenser les pratiques d'élevage pour tendre vers une utilisation raisonnée des traitements anthelminthiques et de méthodes de lutte alternatives. Ces nouvelles approches doivent être intégrées aussi bien par l'éleveur que par le vétérinaire traitant qui joue un rôle important dans l'aspect sanitaire de l'élevage. Même si elles peuvent se montrer davantage chronophages, à terme, elles pourraient permettre de réaliser des économies non négligeables pour l'éleveur.

Les méthodes de détection de résistance demeurent longues et fastidieuses à réaliser mais nous avons montré que l'utilisation de coprologies de mélange dans la réalisation du test de réduction d'excrétion d'œufs pourrait être une alternative plus abordable et prometteuse. La combinaison de cette nouvelle technique à l'utilisation d'outils moléculaires d'identification des espèces résistantes pourrait permettre la réalisation d'enquêtes à plus large échelle sur le territoire afin de déterminer la prévalence réelle de la résistance aux anthelminthiques des strongles ovins en France.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABBOTT KA., TAYLOR M. et STUBBINGS LA. (2012). Sustainable Worm Control Strategies For Sheep 4th Edition : A technical Manual for Veterinary Surgeons and Advisers. In : *Liver Fluke control in cattle and sheep*. 2012. n° June, p. 1-78.

ATTA A. H. et ABO-SHIHADA M. N. (2000). Comparative pharmacokinetics of doramectin and ivermectin in sheep. In : *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2000. Vol. 23, p. 49-52. DOI 10.1016/S0304-4017(97)00070-8.

BAGNALL N. H., RUFFELL A., RAZA A., ELLIOTT T. P., LAMB J., HUNT P. W. et KOTZE A. C. (2017). Mutations in the Hco-mptl-1 gene in a field-derived monepantel-resistant isolate of *Haemonchus contortus*. In : *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2017. Vol. 7, n° 2, p. 236 - 240. DOI 10.1016/j.ijpddr.2017.05.001.

BARTON N. J. (1983). Development of anthelmintic resistance in nematodes from sheep in Australia subjected to different treatment frequencies. In : *International Journal for Parasitology*. 1983. DOI 10.1016/0020-7519(83)90002-4.

BENTOUNSI B., MERADI S. et CABARET J. (2012). Towards finding effective indicators (diarrhoea and anaemia scores and weight gains) for the implementation of targeted selective treatment against the gastro-intestinal nematodes in lambs in a steppic environment. In : *Veterinary Parasitology*. 2012. Vol. 187, n° 1-2, p. 275-279. DOI 10.1016/j.vetpar.2011.12.024.

BLACKHALL W. J., POULIOT J-F., PRICHARD R. K. et BEECH R. N. (1998). *Haemonchus contortus*: Selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin and moxidectin-selected strains. In : *Experimental Parasitology*. 1998. DOI 10.1006/expr.1998.4316.

BLACKHALL W. J., PRICHARD R. K. et BEECH R. N. (2003). Selection at a γ -aminobutyric acid receptor gene in *Haemonchus contortus* resistant to avermectins/milbemycins. In : *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2003. Vol. 131, n° 2, p. 137-145. DOI 10.1016/S0166-6851(03)00201-9.

BONNEFOND M. et CANELLAS A. (2014). *Optimisation des outils de diagnostic des strongyloses gastro-intestinales des ovins*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014, 133 p.

BORGSTEEDE F. H. et DUYN S. P. (1989). Lack of reversion of a benzimidazole resistant strain of *Haemonchus contortus* after six years of levamisole usage. In : *Research in veterinary science*. 1989. Vol. 47, n° 2, p. 270-272. DOI 10.1016/S0034-5288(18)31218-9.

BUSSIÉRAS J. et CHERMETTE R. (1995). *Abrégé de parasitologie vétérinaire, III*. Maisons Alfort : Service de parasitologie, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. ISBN 978-2-900793-04-6.

CABARET J. (2012). Résistance des strongles aux anthelminthiques chez les ruminants. In : *Le point Vétérinaire, numéro spécial « Parasitologie des ruminants »*. 2012. Vol. 43, p. 8-13.

CAZAJOUS T., PREVOT F., KERBIRIOU A., MILHES M., GRISEZ C., TROPEE A., GODART C., ARAGON A. et JACQUIET P. (2018). Multiple-resistance to ivermectin and benzimidazole of a *Haemonchus contortus* population in a sheep flock from mainland France, first report. In : *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2018. Vol. 14, n° March, p. 103-105. DOI 10.1016/j.vprsr.2018.09.005.

CHARTIER C. et CAMUSET P. (2012). La gestion du pâturage chez les bovins. In : *Le point vétérinaire*. 2012. Vol. 43, p. 22-28.

CHARTIER C., CHAUVIN A. et RAVINET N. (2015). La résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques chez les bovins vers un nécessaire changement de paradigme. In : *Le nouveau praticien vétérinaire - Elevages et santé*. 2015. Vol. 30, p. 23-31.

CINTRA M. C.R., TEIXEIRA V. N., NASCIMENTO L. V. et SOTOMAIOR C. S. (2016). Lack of efficacy of monepantel against *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. In : *Veterinary Parasitology*. 2016. Vol. 216, p. 4 - 6. DOI 10.1016/j.vetpar.2015.11.013.

COLES G. C., JACKSON F., POMROY W. E., PRICHARD R. K., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G., SILVESTRE A., TAYLOR M. A. et VERCRUYSSSE J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. In : *Veterinary Parasitology*. 2006. Vol. 136, n° 3 - 4, p. 167 - 185. DOI 10.1016/j.vetpar.2005.11.019.

COLES G. C., BAUER C., BORGSTEEDE F. H. M., GEERTS S., KLEI T. R. et TAYLOR M. A. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. In : *Veterinary Parasitology*. 1992. Vol. 44, n° 1992, p. 35-44.

DASH K. M., HALL E. et BARGER I. A. (1988). The role of arithmetic and geometric mean worm egg counts in faecal egg count reduction tests and in monitoring strategic drenching programs in sheep. In : *Australian veterinary journal*. 1988. DOI 10.1111/j.1751-0813.1988.tb07359.x.

DE OLIVEIRA P. A., RIET-CORREA B., ESTIMA-SILVA P., COELHO A. C. B., DOS SANTOS B. L., COSTA M. A. P., RUAS J. L. et SCHILD A. L. (2017). Multiple anthelmintic resistance in Southern Brazil sheep flocks. In : *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*. 2017. Vol. 26, n° 4, p. 427 - 432. DOI 10.1590/s1984-29612017058.

DEMELE J., KÜTTLE U., EL-ABDELLATI A., STAFFORD K., RYDZIK A., VARADY M., KENYON F., COLES G., HÖGLUND J., JACKSON F., VERCRUYSSSE J. et VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G. (2010). Standardization of the larval migration inhibition test for the detection of resistance to ivermectin in gastro intestinal nematodes of ruminants. In : *Veterinary Parasitology*. 24 novembre 2010. Vol. 174, n° 1-2, p. 58-64. DOI 10.1016/J.VETPAR.2010.08.020.

DEMELE J., KRÜCKEN J., ALGUSBI S., RAMÜNKE S., DE GRAEF J., KERBOEUF D., GELDHOF P., POMROY W. E. et VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G. (2013). Potential contribution of P-glycoproteins to macrocyclic lactone resistance in the cattle parasitic nematode *Cooperia oncophora*. In : *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2013. DOI 10.1016/j.molbiopara.2013.01.004.

DEVER M.L. KAHN L.P. DOYLE E.K. et WALKDEN-BROWN S.W. (2016). Immune-mediated responses account for the majority of production loss for grazing meat-breed lambs during *Trichostrongylus colubriformis* infection. In : *Veterinary Parasitology*. 30 janvier 2016. Vol. 216, p. 23 - 32. DOI 10.1016/J.VETPAR.2015.11.017.

DOBSON R. J., SANGSTER N. C., BESIÉ R. B. et WOODGATE R. G. (2009). Geometric means provide a biased efficacy result when conducting a faecal egg count reduction test (FECRT). In : *Veterinary Parasitology*. 2009. DOI 10.1016/j.vetpar.2008.12.007.

DOBSON R. J., LEJAMBRE L. et GILL J. H. (1996). Management of anthelmintic resistance: Inheritance of resistance and selection with persistent drugs. In : *International Journal for Parasitology*. 1 août 1996. Vol. 26, n° 8-9, p. 993-1000. DOI 10.1016/S0020-7519(96)80078-6.

EICHSTADT M. (2017). *Evaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques dans quatre élevages ovins allaitants de Corrèze*. Thèse d'exercice, Médecine Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2017, 157p.

ELENA GONZÁ LEZ-SÁNCHEZ M., CUQUERELLA M., ALUNDA J. M., LEE HO P. et BUTANTAN I. (2018). Vaccination of lambs against *Haemonchus contortus* with the recombinant rHc23. Effect of adjuvant and antigen dose. In : *PLOS One*. 2018. DOI 10.1371/journal.pone.0193118.

EREZ M. S. et KOZAN E. (2018). Anthelmintic Resistance in Farm Animals. In : *Kocatepe Veterinary Journal*. 2018. Vol. 11, p. 1-9. DOI 10.30607/kvj.429795.

FALZON L. C., O'NEILL T. J., MENZIES P. I., PEREGRINE A. S. JONES-BITTON A., VANLEEUEWEN J. et MEDEROS A. (2014). A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. In : *Preventive Veterinary Medicine*. 2014. Vol. 117, n° 2, p. 388 - 402. DOI 10.1016/j.prevetmed.2014.07.003.

FALZON L. C., VAN LEEUWEN J., MENZIES P. I., JONES-BITTON A., SEARS W., JANSEN J. T. et PEREGRINE A. S. (2015). Erratum to: Comparison of calculation methods used for the determination of anthelmintic resistance in sheep in a temperate continental climate. In : *Parasitology Research*. 2015. Vol. 114, n° 4, p. 1631-1643. DOI 10.1007/s00436-014-4253-6.

FARAHNAK A., ANVAR-SEYYEDI M. et JALALI M. (2007). Study on glutathione S-transferase inhibition assay by triclabendazole. III: Nematodirus parasite and sheep liver tissue. In : *Acta Medica Iranica*. 2007. Vol. 45, n° 6, p. 431-436.

FLEMING J. T., SQUIRE M. D., BARNES T. M., TORNOE C., MATSUDA K., AHNN J., FIRE A., SULSTON J. E., BARNARD E. A., SATTELLE D. B. et LEWIS J. A. (1997). Caenorhabditis elegans Levamisole Resistance Genes lev-1 , unc-29 , and unc-38 Encode Functional Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunits . In : *The Journal of Neuroscience*. 1997. Vol. 17, n° 15, p. 5843 - 5857. DOI 10.1523/jneurosci.17-15-05843.1997.

GEORGE M. M., PARAS K. L., HOWELL S. B. et KAPLAN R. M. (2017). Utilization of composite fecal samples for detection of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of cattle. In : *Veterinary Parasitology*. 2017. Vol. 240, p. 24 - 29. DOI 10.1016/j.vetpar.2017.04.024.

GEURDEN, T., HOSTE H., JACQUIET P., TRAVERSA D., SOTIRAKI S., FRANGIPANE DI REGALBONO A., TZANIDAKIS N., KOSTOPOULOU D., GAILLAC C., PRIVAT S., GIANGASPERO A., ZANARDELLO C., NOÉ L., VANIMISSETTI B. et BARTRAM D. (2014). Anthelmintic resistance and multidrug resistance in sheep gastro-intestinal nematodes in France, Greece and Italy. In : *Veterinary Parasitology*. 2014. DOI 10.1016/j.vetpar.2014.01.016.

GHISI M., KAMINSKY R. et MÄSER P. (2007). Phenotyping and genotyping of Haemonchus contortus isolates reveals a new putative candidate mutation for benzimidazole resistance in nematodes. In : *Veterinary Parasitology*. 2007. Vol. 144, n° 3-4, p. 313-320. DOI 10.1016/j.vetpar.2006.10.003.

GILLEARD J. S. (2006). Understanding anthelmintic resistance: The need for genomics and genetics. In : *International Journal for Parasitology*. 2006. Vol. 36, n° 12, p. 1227-1239. DOI 10.1016/j.ijpara.2006.06.010.

HOSTE H. et TORRES-ACOSTA J.F.J. (2011). Non chemical control of helminths in ruminants: Adapting solutions for changing worms in a changing world. In : *Veterinary Parasitology*. 4 août 2011. Vol. 180, n° 1-2, p. 144 - 154. DOI 10.1016/j.vetpar.2011.05.035.

HOSTE H., ARROYO LOPEZ C., MANOLARAKI F., ROBERTOS O. N., SOTIRAKI S. et TORRES-ACOSTA J. F. J. (2012). Parasitisme helminthique des ruminants : le paradoxe du pâturage ? In : *Le point vétérinaire*. 2012. Vol. Parasitolo, p. 30; 35.

JABBAR A., IQBAL Z., KERBOEUF D., MUHAMMAD G., KHAN M. N. et AFAQ M., (2006). Anthelmintic resistance: The state of play revisited. In : *Life Sciences*. 2006. Vol. 79, n°26, p. 2413 - 2431.

JACQUIET P., BARILLET F., BOUIX J., FRANCOIS D., MORENO C. et TEREFE G. (2009). La résistance génétique des ovins aux strongles gastro-intestinaux. In : *Bulletin de l'Academie Veterinaire de France*. 2009. Vol. 162, n° 1, p. 39-46.

JACQUIET P. (1997). Les strongles digestifs des ruminants. In : *Le point Vétérinaire, numéro spécial « Parasitologie des ruminants »*. 1997. Vol. 28, p. 20,21.

JACQUIET P. (2012). Résistance génétique aux nématodes chez les ruminants. In : *Le point vétérinaire - Parasitologie interne des ruminants*. 2012. p. 42; 47.

JACQUIET P. (2015). Comment rationaliser les traitements anthelminthiques en élevage ovin ? In : *Le nouveau praticien vétérinaire - Elevages et santé*. 2015. p. 45-50.

JACQUIET P. (2016). Les strongyloses gastro-intestinales des ruminants - Cours de parasitologie, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2016.

JACQUIET P., AGUERRE S., RUIZ-HUIDOBRO C., GRIZET C., PRÉVOT F., MILHÈS M., SAGOT L., ASTRUC J.-M., FIDELLE F., VIAL-NOVELLA C. et MORENO C. (2018). Comment lutter contre les strongles gastro-intestinaux résistants ? In : *Bulletin des GTV, numéro spéciale*. 2018. p. 45-51.

JACQUIET P., CANELLAS A., BONNEFONT M., PREVOT F., LIENARD E., MILHES M. et GRISEZ C. (2014). Les outils de dépistage des strongyloses gastro-intestinales chez les ovins. In : *Le nouveau praticien vétérinaire - Elevages et santé*. 2014. Vol. 7 n°.

JACQUIET P., FIDELLE F., LEPETITCOLIN E., PRIVAT S., GAILLAC C., BERGEAUD J.-P. et HOSTE H. (2014). Etat des lieux de la résistance aux anthelminthiques en France chez les ovins. In : *Le nouveau praticien vétérinaire - Elevages et santé*. 2014. Vol. 7 / n°, p. 17,18.

KAPLAN R. M., BURKE J. M., TERRILL T. H., MILLER J. E., GETZ W. R., MOBINI S., VALENCIA E., WILLIAMS M. J., WILLIAMSON L. H., LARSEN M. et VATTA A. F. (2004). Validation of the FAMACHA® eye color chart for detecting clinical anemia in sheep and goats on farms in the southern United States. In : *Veterinary Parasitology*. 2004. Vol. 123, n° 1-2, p. 105-120. DOI 10.1016/j.vetpar.2004.06.005.

KIKI-MVOUAKA S. (2009). *Rôle de la P-glycoprotéine dans le devenir des lactones macrocycliques antiparasitaires chez l'animal*. Thèse doctorale, Pharmacologie-Toxicologie, Université Toulouse III Paul-Sabatier, 2009.

KÖHLER P. (2001). The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. In : *International Journal for Parasitology*. 2001. Vol. 31, n° 4, p. 336 - 345. DOI 10.1016/S0020-7519(01)00131-X.

KOTZE A. C. et PRICHARD R. K. (2016). Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*. History, Mechanisms and Diagnosis. In : *Advances in Parasitology*. 2016. Vol. 93, p. 397-428. DOI 10.1016/bs.apar.2016.02.012.

KWA M. S.G., VEENSTRA J. G. et ROOS M. H. (1994). Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in β -tubulin isotype 1. In : *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1994. Vol. 63, n° 2, p. 299-303. DOI 10.1016/0166-6851(94)90066-3.

LANDIS J. R. et KOCH G. G. (1977). The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. In : *Biometrics*. 1977. Vol. 33, n° 1, p. 159 - 174. DOI 10.2307/2529310.

LARSEN J. W. A., VIZARD A. L. et ANDERSON N. (1995). Production losses in Merino ewes and financial penalties caused by. In : *Australian Veterinary Journal*. 1995. Vol. 72, n° 2, p. 58-63.

LAWRENCE K. E., RHODES A. P., JACKSON R., LEATHWICK D. M., HEUER C., POMROY W. E., WEST D. M., WAGHORN T. S. et MOFFAT J. R. (2006). Farm management practices associated with macrocyclic lactone resistance on sheep farms in New Zealand. In : *New Zealand Veterinary Journal*. 2006. DOI 10.1080/00480169.2006.36712.

LEATHWICK D. M. et BESIÈRE R. B. (2014). The management of anthelmintic resistance in grazing ruminants in Australasia-strategies and experiences. In : *Veterinary Parasitology*. 2014. DOI 10.1016/j.vetpar.2013.12.022.

LEFÈVRE P.-C., BLANCOU J. et CHERMETTE R. (2003). *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail: Europe et régions chaudes*. Paris : Tec & Doc. ISBN 978-2-7430-0495-8.

LLOBERAS M., ALVAREZ L., ENTROCASSO C., VIRKEL G., LANUSSE C. et LIFSCHITZ A. (2012). Measurement of ivermectin concentrations in target worms and host gastrointestinal tissues: Influence of the route of administration on the activity against resistant *Haemonchus contortus* in lambs. In : *Experimental Parasitology*. 2012. DOI 10.1016/j.exppara.2012.04.014.

MARTIN R., ROBERTSON A. et BJORN H. (1997). Target sites of anthelmintics. In : *Parasitology*. 1997.

MAVROT F., HERTZBERG H. et TORGERSON P. (2015). Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. In : *Parasites & Vectors*. 2015. Vol. 8, n° 1, p. 557. DOI 10.1186/s13071-015-1164-z.

MCKENNA P. B. (2006). A comparison of faecal egg count reduction test procedures. In : *New Zealand Veterinary Journal*. 2006. Vol. 54, n° 4, p. 202-203. DOI 10.1080/00480169.2006.36697.

MILHES M., GUILLERM M., ROBIN M., EICHSTADT M., ROY C., GRISEZ C., PRÉVOT F., LIÉNARD E., BOUHSIRA E., FRANC M. et JACQUIET P. (2017). A real-time PCR approach to identify anthelmintic-resistant nematodes in sheep farms. In : *Parasitology Research*. 2017. Vol. 116, n° 3, p. 909-920. DOI 10.1007/s00436-016-5364-z.

MILLER C. M. D., WAGHORN T. S., LEATHWICK D. M. et GILMOUR M. L. (2006). How repeatable is a faecal egg count reduction test ? In : *New Zealand Veterinary Journal*. 2006. DOI 10.1080/00480169.2006.36718.

MILLER C. M. D., HOWELL M. J. et BORAY J. C. (1994). Glutathione S-transferases as markers of salicylanilide resistance in isolates of *Fasciola hepatica*. In : *International Journal for Parasitology*. 1 juillet 1994. Vol. 24, n° 4, p. 533 - 542. DOI 10.1016/0020-7519(94)90145-7.

MOLINA J. M., RUIZ A., HERNÁNDEZ B., GONZÁLEZ J. F., MARTÍN S. et HERNÁNDEZ Y. I. (2008). Eprinomectin « pour-on » and the shedding of *Haemonchus contortus* eggs in experimentally infected goats. In : *Australian Veterinary Journal*. 2008. Vol. 86, n° 11, p. 444 - 445. DOI 10.1111/j.1751-0813.2008.00360.x.

MORGAN E. R., CAVILL L., CURRY G. E., WOOD R. M. et MITCHELL E. S.E. (2005). Effects of aggregation and sample size on composite faecal egg counts in sheep. In : *Veterinary Parasitology*. 2005. Vol. 131, n° 1 - 2, p. 79 - 87. DOI 10.1016/j.vetpar.2005.04.021.

O'CONNOR L. J., WALKDEN-BROWN S. W. et KAHN L. P. (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. In : *Veterinary Parasitology*. 2006. Vol. 142, n° 1-2, p. 1-15. DOI 10.1016/j.vetpar.2006.08.035.

OLAH S., VAN WYK J. A., WALL R. et MORGAN E. R. (2015). FAMACHA®: A potential tool for targeted selective treatment of chronic fasciolosis in sheep. In : *Veterinary Parasitology*. 2015. Vol. 212, n° 3 - 4, p. 188 - 192. DOI 10.1016/j.vetpar.2015.07.012.

OVEREND D. J., PHILLIPS M. L., POULTON A.L. et FOSTER C. E. (1994). Anthelmintic resistance in Australian sheep nematode populations. In : *Australian veterinary journal*. 1994. p. 117-121.

PAPADOPOULOS E. (2008). Anthelmintic resistance in sheep nematodes. In : *Small Ruminant Research*. 2008. Vol. 76, n° 1 - 2, p. 99 - 103. DOI 10.1016/j.smallrumres.2007.12.012.

PARAUD C., PORS I., MARCOTTY T. et DEVOS J. (2014). Un premier cas de résistance aux lactones macrocycliques chez les nématodes gastro-intestinaux confirmé en élevage ovin en France. First description of strongyle resistance to macrocyclic lactones in a sheep flock in France. In : *21^{ème} journée des Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants*. 2014. n° 1, p. 325-328.

PLOEGER H. W. et EVERTS R. R. (2018). Alarming levels of anthelmintic resistance against gastrointestinal nematodes in sheep in the Netherlands. In : *Veterinary Parasitology*. 2018. Vol. 262, p. 11-15. DOI 10.1016/j.vetpar.2018.09.007.

PRESIDENTE P. J. A. (1985). Methods for detection of resistance to anthelmintics. In : *Anderson N, Waller PJ (eds) Resistance in nematodes to anthelmintic drugs*. 1985. p. 13-28.

PRICHARD R. K. (2001). Genetic variability following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics. In : *Trends in Parasitology*. 2001. Vol. 17, n° 9, p. 445-453. DOI 10.1016/S1471-4922(01)01983-3.

RIVIERE J. E. et PAPICH M. G., 2017. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Tenth Edition*. 2017.

ROBERTSON A. P., BJORN H. E. et MARTIN R. J. (2018). Resistance to levamisole resolved at the single-channel level. In : *The FASEB Journal*. 2018. Vol. 13, n° 6. DOI 10.1096/fasebj.13.6.749.

ROEBER F., JEX A. R., CAMPBELL A. J.D., CAMPBELL B. E., ANDERSON G. A. et GASSER R. B. (2011). Evaluation and application of a molecular method to assess the composition of strongylid nematode populations in sheep with naturally acquired infections. In : *Infection, Genetics and Evolution*. 2011. Vol. 11, n° 5, p. 849-854. DOI 10.1016/j.meegid.2011.01.013.

SALES N. et LOVE S. (2016). Resistance of *Haemonchus* sp. to monepantel and reduced efficacy of a derquantel / abamectin combination confirmed in sheep in NSW, Australia. In : *Veterinary Parasitology*. 2016. Vol. 228. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.08.016.

SANTOS J. M. L. D., VASCONCELOS J. F., FROTA G. A., RIBEIRO W. L. C., ANDRÉ W. P. P., VIEIRA, L. da S., TEIXEIRA M., BEVILAQUA C. M. L. et MONTEIRO J. P. (2017). *Haemonchus contortus* β -tubulin isotype 1 gene F200Y and F167Y SNPs are both selected by ivermectin and oxfendazole treatments with differing impacts on anthelmintic resistance. In : *Veterinary Parasitology*. 2017. Vol. 248, n° November, p. 90-95. DOI 10.1016/j.vetpar.2017.11.003.

SCHEUERLE M., MAHLING M., MUNTWYLER J. et PFISTER K. (2010). The accuracy of the FAMACHA©-method in detecting anaemia and haemonchosis in goat flocks in Switzerland under field conditions. In : *Veterinary Parasitology*. 2010. DOI 10.1016/j.vetpar.2010.01.035.

SHAW R. J., MORRIS C. A., WHEELER M., TATE M. et SUTHERLAND I. A. (2012). Salivary IgA: A suitable measure of immunity to gastrointestinal nematodes in sheep. In : *Veterinary Parasitology*. 2012. Vol. 186, n° 1 - 2, p. 109 - 117. DOI 10.1016/j.vetpar.2011.11.051.

SILVESTRE A. et CABARET J. (2002). Mutation in position 167 of isotype 1 β -tubulin gene of Trichostrongylid nematodes: Role in benzimidazole resistance? In : *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2002. Vol. 120, n° 2, p. 297 - 300. DOI 10.1016/S0166-6851(01)00455-8.

SMITH J. M. et PRICHARD R. K. (2006). Localization of P-Glycoprotein mRNA in the Tissues of Haemonchus contortus Adult Worms and Its Relative Abundance in Drug-Selected and Susceptible Strains. In : *The Journal of Parasitology*. 2006. DOI 10.2307/3285459.

SMOTHERS C. D., SUN F. et DAYTON A. D. (1999). Comparison of arithmetic and geometric means as measures of a central tendency in cattle nematode populations. In : *Veterinary Parasitology*. 1999. DOI 10.1016/S0304-4017(98)00206-4.

STAFFORD K. A., MORGAN E. R. et COLES G. C. (2009). Weight-based targeted selective treatment of gastrointestinal nematodes in a commercial sheep flock. In : *Veterinary Parasitology*. 2009. Vol. 164, n° 1, p. 59 - 65. DOI 10.1016/j.vetpar.2009.04.009.

SUTHERLAND I. et SCOTT I. (2010). *Gastrointestinal nematodes of sheep and cattle ; biology and control*. Chichester, West Sussex : Wiley-Blackwell. ISBN 978-1-4051-8582-0.

TAYLOR M. A., HUNT K. R. et GOODYEAR K. L. (2002). *Anthelmintic resistance detection methods*. 2002.

TORRES-ACOSTA J. F.J. et HOSTE H. (2008). Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. In : *Small Ruminant Research*. 2008. DOI 10.1016/j.smallrumres.2008.03.009.

URQUHART G. M., ARMOUR J., DUNCAN J. L., DUNN A. M. et JENNINGS F. W., (1996). *Veterinary parasitology*. 2nd ed. Oxford : Blackwell Science. ISBN 978-0-632-04051-3.

VAN WYK J. A. et FBATH G. (2002). The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. In : . 2002. Vol. 37, p. 655-670. DOI 10.1051/vetres.

VEILLET F. (2001). *Le closantel : synthèse bibliographique*. Thèse d'exercice, Médecine Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - 2001, 105p.


WOLSTENHOLME A. J., FAIRWEATHER I., PRICHARD R., VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G. et SANGSTER N. C. (2004). Drug resistance in veterinary helminths. In : *Trends in Parasitology*. 2004. Vol. 20, n° 10, p. 469 - 476. DOI 10.1016/j.pt.2004.07.010.

ZAJAC A. M. (2006). Gastrointestinal nematodes of small ruminants: life cycle, anthelmintics, and diagnosis. In : *North Am Vet Clin, Food Animal Pract.* 2006. Vol. 22. DOI 10.1016/j.cvfa.2006.07.006.

ZAJAC, A. M. (2006). Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants: Life Cycle, Anthelmintics, and Diagnosis. In : *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 2006. Vol. 22, n° 3, p. 529-541. DOI 10.1016/J.CVFA.2006.07.006.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche explicative du protocole expérimental envoyée à chaque éleveur avant le début des manipulations



Thèse vétérinaire
Sébastien GREIL
Aline RICHELME

EVALUATION DE LA RESISTANCE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX AUX ANTHELMINTHIQUES DANS DIX ELEVAGES OVINS ALLAITANTS DE HAUTE-VIENNE

FICHE EXPLICATIVE

Le but de cette étude est de tester 8 produits couramment utilisés contre les strongles gastro-intestinaux en élevage ovin, afin d'évaluer leur efficacité au sein d'une population donnée.

① **Préliminaires**

- Pas de traitement antiparasitaire depuis au moins 2 mois, préférentiellement 3 mois,
- Envoi par l'éleveur d'un échantillon de fèces de 4-5 individus à l'ENVTO,
- Analyse coprologique : si la quantité d'œufs est suffisante, prise de rendez-vous pour la première visite en élevage.

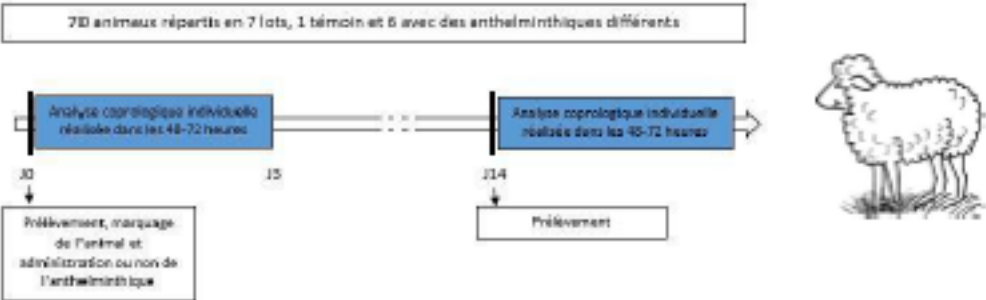
② **Première visite (J0) :**

- Allotement des brebis en 7 lots : les millésimes doivent être équilibrés entre chaque lot, et les individus doivent avoir fait une sortie complète en pâture,
- Prélèvements individuels de matières fécales au rectum, identification des pots de prélèvement, marquage des brebis à l'aide d'une bombe de couleur et traitement (6 lots recevant chacun un produit et 1 lot témoin sans traitement),
- Analyse des échantillons par coprologie à l'ENVTO.

③ **Seconde visite, 14 jours plus tard (J14) :**

- Ré-allotement des brebis,
- Prélèvements individuels de matières fécales au rectum pour chaque brebis précédemment prélevée lors de la 1^{ère} visite, identification des pots de prélèvements,
- Analyse des échantillons par coprologie à l'ENVTO.

70 animaux répartis en 7 lots, 1 témoin et 6 avec des anthelminthiques différents



```
graph LR
    J0["J0 : Analyse coprologique individuelle réalisée dans les 48-72 heures  
Prélèvement, marquage de l'animal et administration ou non de l'anthelminthique"]
    J14["J14 : Analyse coprologique individuelle réalisée dans les 48-72 heures  
Prélèvement"]
    J0 --> J14
```

④ **Interprétation des résultats :**

- Dans un 1^{er} temps, nous comparerons la quantité d'œufs de strongles présents dans les échantillons à J0 et à J14 pour chaque brebis participant à l'étude. La quantité d'œufs à J14 devrait significativement diminuer si le produit utilisé fonctionne. On dira que la population de strongles ne présente pas de résistance au traitement si le pourcentage de réduction des œufs est supérieur à 85%.
- Dans un 2nd temps, suite à une coproculture des œufs, les larves obtenues seront identifiées et quantifiées.

Que vous apportera cette étude ?

Connaître les produits ayant une réelle efficacité sur les parasites de votre élevage !

Annexe 2: Questionnaire mis à disposition des éleveurs afin de connaître leurs paramètres zootechniques ainsi que leurs pratiques antiparasitaires

QUESTIONNAIRE THESE

Généralités

Nom de la structure :

N° d'élevage :

Responsable :

Adresse :

Téléphone :

Adresse mail :

Exploitation

Type de production :

Race :

Poids moyen adulte :

Nombre de têtes :

 Mâles :

 Femelles reproductrices :

 Agnelles :

Age de mise à la reproduction :

Période d'agnelage :

Fertilité, prolificité, nombre d'agneaux par brebis mise à la reproduction :

Taux de renouvellement :

Conduite d'élevage (pâturage/bâtiment/lots/rotation des prairies) :

Achat de brebis :

Vente de brebis :

Pratiques antiparasitaires

Protocole (nombre traitement/période/classe d'âge) contre les strongles :

- Agnelles :
- Adultes :

Molécules utilisées :

Autres traitements antiparasitaires réalisés (contre gale, etc..) :

Analyses précédentes :

Vision personnelle

Pourquoi avez-vous participé à cette étude ?

Est-ce-que vous pensez avoir des problèmes de parasites ? Autopsies ?

Quelle importance ou impact cela a-t-il selon vous sur votre élevage ?

Les traitements vous semblent-ils efficaces ?

Le rapport prix/résultat vous semble-t-il intéressant ?

Voyez-vous un intérêt à la coprologie ?

Remarque :

Annexe 3 : Tableau récapitulatif des réponses des éleveurs au questionnaire

Elevage	Caractéristiques de l'élevage	Races / effectif de femelles reproductrices	Lot étudié	Traitements : molécules fréquemment utilisées, fréquence	Mode de pâturage / Période d'agnelage
A	Ovins viande à tendance Bio	Croisés Berrichon du Cher, INRA 401, Ile de France / 400	2011 à 2016	Alternance régulière de molécules : Fenbendazole, Ivermectine, Moxidectine, Closantel (béliers) Fréquence : traitements raisonnés, en fonction des résultats de coproscopie Chez les agnelles : Argile et Kefir (bergerie) ou Moxidectine (herbe) Autres parasitoses : aucune molécule strongyicide	Mode de pâturage : - Dynamique au printemps et à l'automne (un lot déplacé sur 8 parcelles, une parcelle par jour) - Tournant l'été sur 3 jours / 3 périodes d'agnelages : aout/septembre ; mi-décembre/mi-janvier ; mi-mars/fin avril
B	Ovins viande	Vendéens et Romanes / 578	2013 à 2016	Agnelles : Traitement systématique 6 semaines après la mise à l'herbe Lévamisole puis Moxidectine un mois plus tard Adultes : Au printemps et automne en fonction des coproscopies : Lévamisole ou Moxidectine A l'agnelage traitement systématique : Seponver + Lévamisole Autres parasitoses : Doramectine (Gâle) Nétobimin (Petite Douve)	Mode de pâturage : Pâturage tournant / 2 périodes d'agnelages : octobre/novembre ; février/mars
C	Ovins viande	Romane et Charollais x Texel / 405	2011 à 2017	Molécules utilisées en alternance : Moxidectine, Nétobimin, Mébendazole/Closantel (Supaverm®), Lévamisole Fréquence : Agnelles, 3 traitements par an. Adultes : 2 à 3 traitements par an Autres parasitoses : Doramectine (Gâle)	Mode de pâturage : Prairies pâturées (sauf en fin de gestation et début/toute lactation) toute l'année / 3 périodes d'agnelage : aout/septembre ; novembre ; mars/avril

Elevage	Caractéristiques de l'élevage	Races / effectif de femelles reproductrices	Lot étudié	Traitements : molécules fréquemment utilisées, fréquence	Mode de pâturage / Période d'agnelage
D	Mixte bovins (Limousine) et ovins	Brebis de pays / 320	2012 à 2017	<p>Alternance des molécules en fonction de la saison : Lévamisole (printemps), Moxidectine ou Doramectine (été) Albendazole (automne/hiver) Mébéndazole/Closantel (Supaverm®)</p> <p>Fréquence : 4 traitements par an, dont automne/hiver en fonction des coproscopies</p> <p>Autres parasitoses : aucune molécule strongylicide</p>	<p>Mode de pâturage : Prairies pâturées 9 mois sur 12</p> <p>1 période d'agnelage étalée de septembre à fin mars (environ 1 lot/mois)</p>
E	Ovins viande et sélection	Suffolk et Charolais / 120	2008 à 2017	<p>Moxidectine (Cydectine LA®), Albendazole</p> <p>Fréquence : 2 traitements par an</p> <p>Autres parasitoses : aucune molécule strongylicide</p>	<p>Mode de pâturage : Pâturage tournant de mars à novembre</p> <p>1 période d'agnelage étalée de décembre à avril</p>
F	Mixte bovins (Limousine) et ovins viande	Brebis de pays x Texel x Suffolk x Berrichon du cher / 225	2012 à 2016	<p>Ivermectine (au sevrage des agnelles) Moxidectine, Mébéndazole/Closantel (Supaverm®)</p> <p>Fréquence : 2 fois par an</p> <p>Autres parasitoses : Doramectine (Gale)</p>	<p>Mode de pâturage : Pâturage tournant (changement toutes les semaines sur une 1 parcelle divisée en 4-5 zones)</p> <p>2 périodes d'agnelage : octobre/novembre et février/mars</p>
G	Mixte bovins (Limousine) et ovins viande	Croisé à dominante charolaise / 71	2009 à 2018	<p>Ivermectine, Moxidectine</p> <p>Autres parasitoses : Doramectine (Gale)</p>	<p>Mode de pâturage : Pâturage tournant, 2 à 3 parcelles disponibles par lot</p> <p>2 périodes d'agnelage : novembre et janvier/février</p>

Annexe 4 : Comptage larvaire manuel et par qPCR de chaque lot après coproculture (en nombre de larves/mL)

Lot		Elevage A		Elevage B		Elevage C		Elevage D		Elevage E		Elevage F		Elevage G	
		J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14	J0	J14
<i>Témoin</i>	Comptage manuel	66250	13462,5	268,75	3243,75	96,25	243,5	1031,25	912,5	118,75	218,5	37,5	59,375	1493,75	1843,75
	qPCR	199697	28240	736	17446	397	1142	1902	1788	636	426	7	132	6912	5640
<i>Panacur® (fenbendazole)</i>	Comptage manuel	16750	3675	3150	5300	3462,5	1337,5	1150	87,5	887,5	1537,5	137,5	31,25	875	337,5
	qPCR	75154	16694	20238	15216	24766	3768	978	264	8104	4540	504	28	4238	828
<i>Lévamisole 5%® (lévamisole)</i>	Comptage manuel	65900	162,5	3575	3175	587,5	12,5	125	50	600	87,5	250	0	2650	3387,5
	qPCR	496164	156	30478	24730	2030	64	1104	84	10172	186	6022	0	49290	7364
<i>Oramec® (ivermectine)</i>	Comptage manuel	48500	25	2212,5	150	675	0	3612,5	0	1025	875	500	0	925	43,75
	qPCR	242934	10	15756	710	8056	0	65452	16	13676	1294	6082	0	15334	172
<i>Cydectine® (moxidectine)</i>	Comptage manuel	32600	75	537,5	150	2337,5	0	125	12,5	2187,5	75	675	0	3287,5	18,75
	qPCR	203962	118	2960	608	14796	0	976	44	42908	118	4234	0	24940	18
<i>Zolvix® (monépantel)</i>	Comptage manuel	42700	12,5	1637,5	12,5	2387,5	262,5	162,5	0	1412,5	25	187,5	0	3062,5	0
	qPCR	149486	0	9994	6	12794	0	1278	0	20882	0	618	0	35670	66
<i>Seponver® (closantel)</i>	Comptage manuel	67900	2737,5	4212,5	5087,5	525	1062,5	687,5	37,5	212,5	25	250	43,75	4737,5	2225
	qPCR	367138	3014	34004	28132	6386	4198	8850	632	326	144	326	54	59196	7898

Annexe 5 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage A

Lot contrôle			Lot Panacur®			Lot Lévamisol®			Lot Oramec®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
10073	5950	3500	10712	11500	1500	10701	2200	200	10167	10250	0
20673	14800	6250	20136	1350	500	20144	11350	200	30132	10000	0
30040	20850	24000	30082	5450	650	30073	12000	300	30186	5900	95
30043	2350	1950	30180	5200	100	30157	9200	45	30716	350	0
40101	950	1250	40080	850	200	40115	17950	100	40062	1650	0
40105	10800	8200	50016	8700	1600	50106	4200	50	50064	800	0
50196	5250	2000	50068	1050	100	50117	27800	45	50177	17100	50
50279	9350	6800	50156	8550	1450	50431	13550	0	50269	1500	15
61010	8650	5850	60944	3100	50	60929	27950	250	61247	2550	100
61309	7800	4600	61102	14200	1150	61024	13800	50	61336	4800	150
Moyenne (opg)	8675	6440	Moyenne (opg)	5995	730	Moyenne (opg)	14000	124	Moyenne (opg)	5490	41
Mélange (opg)	8850	7650	Mélange (opg)	5550	800	Mélange (opg)	11150	100	Mélange (opg)	4550	15

Lot Cydectine®			Lot Zolvix®			Lot Seponver®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
10723	8350	0	10192	4900	0	10678	41150	900
20038	7400	15	20190	12800	0	20158	2700	100
30124	14800	100	30023	4300	0	30002	10650	400
30745	15500	150	30181	10550	15	30685	12900	700
40083	7300	0	40055	17150	0	40104	6650	500
50012	18000	0	50176	7850	0	50008	4250	500
50161	7300	0	50190	600	0	50150	2100	750
50193	9000	50	50255	30250	0	50240	7050	150
60903	5200	45	60883	11250	0	60987	4550	50
61114	9300	15	61006	3250	0	61077	6600	950
Moyenne (opg)	10215	37,5	Moyenne (opg)	10290	1,5	Moyenne (opg)	9860	500
Mélange (opg)	6950	50	Mélange (opg)	8100	0	Mélange (opg)	12200	450

Annexe 6 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage B

Lot contrôle			Lot Panacur®			Lot Lévamisole®			Lot Oramec®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
33661	2450	2050	31140	1100	550	31242	150	200	31074	2400	0
33736	1650	1500	33321	700	750	31940	450	550	31610	450	50
41353	700	1050	40006	300	50	40064	1050	400	40100	850	15
41372	350	850	40039	300	600	40095	450	150	41024	1600	90
50232	450	750	50011	150	50	50049	1200	200	50095	550	50
50237	450	600	50017	700	250	50054	350	300	50108	150	15
50253	250	800	50027	250	300	50064	1350	100	50121	500	0
62088	450	100	61016	2200	750	61094	550	250	62011	750	15
62098	400	400	61062	500	550	61097	400	600	62023	300	0
62099	1050	1000	61082	850	200	61104	850	400	62029	200	0
Moyenne (opg)	820	910	Moyenne (opg)	705	405	Moyenne (opg)	680	315	Moyenne (opg)	775	23,5
Mélange (opg)	700	700	Mélange (opg)	650	700	Mélange (opg)	550	350	Mélange (opg)	500	15

Lot Cydectine®			Lot Zolvix®			Lot Seponver®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
31231	600	50	31326	200	0	33479	750	150
32131	350	0	33351	950	0	33573	950	550
41052	450	0	33375	200	0	41324	1600	800
41064	1450	50	41133	400	0	41184	900	950
50127	400	0	41150	100	15	50187	1200	750
50131	450	0	50155	1400	0	50194	1200	800
50149	200	0	50156	550	0	50208	450	500
62036	250	150	62054	500	0	62083	850	350
62044	500	15	62063	950	0	62084	450	350
62237	300	0	62136	100	0	62225	1850	700
Moyenne (opg)	495	26,5	Moyenne (opg)	535	1,5	Moyenne (opg)	1020	590
Mélange (opg)	750	30	Mélange (opg)	650	15	Mélange (opg)	1200	500

Annexe 7 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage C

Lot contrôle			Lot Panacur®			Lot Lévamisole®			Lot Oramec®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
10155	200	150	10504	200	30	10335	0	0	10484	100	0
20603	100	200	20418	550	600	20571	2850	0	20351	200	0
30325	50	50	30511	500	400	30338	2450	50	30456	3300	0
40558	600	600	40331	2100	700	40356	1150	30	30462	400	15
60658	650	650	50549	2500	2700	50548	2250	100	61012	2950	0
61050	30	45	61060	2850	900	60984	1500	550	60923	1350	0
71007	1250	2150	70615	1350	1150	70636	900	30	70916	1200	0
71084	1750	1500	71066	1900	1	70910	4150	500	70930	1750	0
71119	1400	700	71149	1300	1350	71082	2200	0	71167	1250	0
71156	450	750	71188	750	1700	71210	1100	0	71206	600	0
Moyenne (opg)	900	928,57	Moyenne (opg)	1344,4	1058,9	Moyenne (opg)	2061	140	Moyenne (opg)	1444	1,67
Mélange (opg)	500	950	Mélange (opg)	1450	1400	Mélange (opg)	1950	150	Mélange (opg)	1450	0

Lot Cydectine®			Lot Zolvix®			Lot Seponver®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
10475	850	0	10507	950	0	30135	2400	1400
20440	2600	0	20419	1550	0	30404	700	1350
30457	2000	0	20473	650	0	50422	1800	2350
40468	16300	0	40364	2000	0	61066	400	700
50419	600	0	60946	5000	0	70913	3150	1500
61045	1800	0	60966	500	0	70921	500	1000
70965	1100	0	70961	1900	0	70971	1150	500
70977	1000	0	70962	950	0	71019	10800	6700
71088	1250	0	70972	10000	0	71061	1650	1500
71151	1150	0	70982	700	0	71194	3850	2600
Moyenne (opg)	2865	0	Moyenne (opg)	535	1,5	Moyenne (opg)	2640	1960
Mélange (opg)	2700	0	Mélange (opg)	650	15	Mélange (opg)	3100	1650

Légende : Les cases hachurées correspondent aux animaux ayant une excrétion fécale d'œufs inférieure à 150 opg ou lorsqu'à J14, aucun fèces n'a pas pu être récupérée.

Annexe 8 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage D

Lot contrôle			Lot Panacur®			Lot Lévamisole®			Lot Oramec®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
20275	1450	2050	20148	15200	1150	20064	450	30	20218	2900	0
31859	135	300	30184	3100	15	32062	4000	400	30353	20750	0
40100	450	150	50017	550	45	50339	200	15	50322	2000	0
50252	200	150	60099	1850	15	60088	500	0	60085	6650	0
60195	700	650	60133	4850	1200	60089	1550	30	60153	850	0
60371	300	600	60272	11850	4700	60270	2150	0	60173	750	0
60412	500	1250	70563	850	150	70658	550	30	70526	1300	0
70450	350	900	70762	450	250	70714	800	15	70694	200	0
70617	300	100	70839	900	1250	70857	4350	0	70850	1700	0
70737	7750	9950	70867	2650	1500	70860	1100	0	70864	150	0
Moyenne (opg)	1333	1755,6	Moyenne (opg)	4225	1027,5	Moyenne (opg)	1565	52	Moyenne (opg)	3725	0
Mélange (opg)	1000	1350	Mélange (opg)	4500	1800	Mélange (opg)	1750	0	Mélange (opg)	4600	0

Lot Cydectine®			Lot Zolvix®			Lot Seponver®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
20144	200	15	20152	3450	0	30191	850	200
30149	600	0	30093	400	0	40227	2250	50
40016	1300	0	31642	250	0	50353	6600	450
50012	900	0	50016	1200	0	60111	500	100
60101	18850	0	60092	4250	0	60193	750	1
60108	1950	0	60281	550	0	60261	1000	0
60314	5500	0	60357	200	0	70643	900	0
70433	550	0	70713	250	0	70660	2400	15
70538	200	0	70456	800	0	70834	450	30
70744	1650	0	70837	350	0	70848	200	0
Moyenne (opg)	3170	1,5	Moyenne (opg)	1170	0	Moyenne (opg)	1683	93,89
Mélange (opg)	2800	0	Mélange (opg)	1750	0	Mélange (opg)	1650	45

Légende : Les cases hachurées correspondent aux animaux ayant une excrétion fécale d'œufs inférieure à 150 opg ou lorsqu'à J14, aucun fèces n'a pas pu être récupérée.

Annexe 9 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage E

Lot contrôle			Lot Panacur®			Lot Lévamisole®			Lot Oramec®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
89108	0	0	10012	0	/	11207	350	150	89070	0	0
31013	2600	1900	11043	650	1050	20032	250	50	83	300	0
40004	150	15	31033	200	15	30006	850	0	15002	600	0
41001	30	30	41087	45	150	31012	0	0	21005	200	15
41002	50	0	50321	1100	850	31054	0	/	31059	0	0
41085	500	350	51019	105	0	41105	50	0	40002	150	0
50179	45	0	51139	150	0	60201	950	150	40008	2100	30
50292	0	50	51145	0	0	60227	150	50	41848	200	15
61113	200	150	61035	650	1050	62054	6500	600	60251	150	0
71156	0	250	61105	0	0	71109	350	150	61054	500	500
Moyenne (opg)	862,5	603,8	Moyenne (opg)	550	593,00	Moyenne (opg)	1342,9	164,29	Moyenne (opg)	528,57	8,57
Mélange (opg)	450	200	Mélange (opg)	300	500	Mélange (opg)	1150	150	Mélange (opg)	500	0

Lot Cydectine®			Lot Zolvix®			Lot Seponver®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
10013	6500	200	21059	15	0	11204	450	450
21002	0	/	31023	350	0	31027	150	
21004	450	0	40007	100	0	31601	0	0
41108	250	0	50231	100	0	41069	100	0
51018	1950	180	51082	0	0	41122	150	150
61046	650	0	60226	0	0	50243	0	0
62160	500	0	60235	5050	0	51073	0	50
71074	120	0	61038	45	0	60228	0	0
71085	1700	0	71075	350	0	61066	0	50
71126	850	0	71101	15	0	71128	50	0
Moyenne (opg)	1606	47,5	Moyenne (opg)	1916,7	0	Moyenne (opg)	300	300
Mélange (opg)	1600	15	Mélange (opg)	200	15	Mélange (opg)	150	50

Légende : Les cases hachurées correspondent aux animaux ayant une excrétion fécale d'œufs inférieure à 150 opg ou lorsqu'à J14, aucun fèces n'a pas pu être récupérée.

Annexe 10 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage F

Lot contrôle			Lot Panacur®			Lot Lévamisole®			Lot Oramec®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
20195	30	0	20165	30	0	20006	30	0	20230	10750	0
20291	150	400	20226	135	200	20194	200	0	20272	1000	0
20335	250	0	20322	200	60	30026	650	0	20400	15	0
20374	100	150	30035	100	100	30043	0	0	30024	50	0
30016	0	50	30118	300	0	41002	450	150	40072	200	0
40031	15	30	40086	0	100	50011	500	0	50181	150	0
50115	150	300	50152	450	200	60565	150	0	60509	250	0
60535	100	15	60580	700		60582	100	0	60574	300	0
60572	250	200	60619	350	250	60606	350	0	60588	950	0
60624	50	30	60621	250	100	60620	15	0	60615	30	0
Moyenne (opg)	200	225	Moyenne (opg)	310	122,00	Moyenne (opg)	383,3	25	Moyenne (opg)	1943	0
Mélange (opg)	100	300	Mélange (opg)	400	100	Mélange (opg)	350	0	Mélange (opg)	950	0

Lot Cydectine®			Lot Zolvix®			Lot Seponver®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
20131	1700	0	20023	150	15	20211	150	30
20137	150	15	20384	15	0	20370	950	200
20321	1050	0	30017	1050	15	30014	30	0
30009	900	0	30020	1900	30	30018	50	0
30085	150	0	30023	200	0	30026	800	650
30185	200	/	30147	250	0	30192	150	15
50007	500	0	50006	1250	0	50003	350	0
60389	45	0	60573	0	15	60518	0	0
60579	15	0	60590	100	15	60561	150	30
60601	100	0	60622	30	0	60578	300	45
Moyenne (opg)	650	2,14	Moyenne (opg)	700	10,71	Moyenne (opg)	407,1	138,57
Mélange (opg)	550	0	Mélange (opg)	400	15	Mélange (opg)	250	100

Légende : Les cases hachurées correspondent aux animaux ayant une excrétion fécale d'œufs inférieure à 150 opg ou lorsqu'à J14, aucun fèces n'a pas pu être récupérée.

Annexe 11 : Résultats des comptages d'excrétion d'œufs de SGI obtenus par coproscopies individuelles et coproscopies de mélange de l'élevage G

Lot contrôle			Lot Panacur®			Lot Lévamisole®			Lot Oramec®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
20110	50	150	101	250	100	90093	0	0	20009	5600	150
40092	500	1300	20173	30	15	20027	150	0	20163	150	0
40122	1250	1400	30003	0	30	30047	450	0	30166	250	0
50136	5500	/	30127	150	300	30077	100	0	30169	500	0
60367	1200	2350	40094	800	500	40082	3400	600	40097	2850	15
60374	250	1150	50123	200	100	50124	150	0	50134	150	0
60383	0	0	60369	0	150	60372	450	0	60394	200	0
60385	300	150	70206	1600	750	70209	550	15	70208	0	0
70212	150	50	70224	150	180	70223	1400	30	70213	15	0
80193	950	700	80192	500	350	80196	900	0	80197	750	0
Moyenne (opg)	657,14	1014,3	Moyenne (opg)	521,4	325,71	Moyenne (opg)	931,3	80,63	Moyenne (opg)	1306	20,63
Mélange (opg)	950	650	Mélange (opg)	250	100	Mélange (opg)	650	100	Mélange (opg)	950	0

Lot Cydectine®			Lot Zolvix®			Lot Seponver®		
Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14	Numéro	FEC J0	FEC J14
20183	45	0	20119	5250	0	20170	600	750
30021	200	0	20129	45	0	20180	1650	950
30170	1300	0	40076	450	0	40111	100	150
40089	450	0	50129	15	0	50133	0	0
50140	150	0	50135	300	0	60362	2450	3450
60377	800	0	60366	0	/	60368	350	650
60384	700	0	60378	1200	0	60380	2000	1500
70211	250	0	60381	10050	0	70222	900	250
70220	450	0	70221	300	0	70225	1250	1050
80195	1200	0	80198	550	0	80194	400	150
Moyenne (opg)	611,1	0	Moyenne (opg)	2586	0	Moyenne (opg)	1200	1094
Mélange (opg)	400	0	Mélange (opg)	1850	0	Mélange (opg)	950	850

Légende : Les cases hachurées correspondent aux animaux ayant une excrétion fécale d'œufs inférieure à 150 opg ou lorsqu'à J14, aucun fèces n'a pas pu être récupérée.

Annexe 12 : Formule du FECR₂ à partir des coprologies individuelles avec calculs de l'intervalle de confiance à 95% dictée par les guidelines et formule du FECR en utilisant la coprologie de mélange

FECR par coprologies individuelles	FECR par coprologie de mélange
<u>Formule du FECR :</u> $FECR = 100 * (1 - \frac{\overline{FEC}_t}{\overline{FEC}_c})$ <p>Où t fait référence au lot post-traitement et c fait référence au lot contrôle post-traitement ou au lot testé prétraitement</p>	<u>Formule du FECR :</u> $FECR = 100 * (1 - \frac{\overline{FEC}_{t\text{ mélange}}}{\overline{FEC}_{c\text{ mélange}}})$ <p>Où t fait référence au lot post-traitement et c fait référence au lot contrôle post-traitement ou au lot testé prétraitement</p>
<u>Moyenne arithmétique des FEC :</u> $\overline{FEC} = \sum_j \frac{FEC_j}{n}$	
<u>Variance d'un lot :</u> $S^2 = \frac{\sum_j FEC^2 - \frac{(\sum_j FEC_j)^2}{n}}{n - 1}$	
<u>Variance de réduction :</u> $Y^2 = \frac{S_t^2}{n_t \overline{FEC}_t^2} + \frac{S_c^2}{n_c \overline{FEC}_c^2}$ <p>Où t fait référence au lot post-traitement et c fait référence au lot contrôle post-traitement ou au lot testé prétraitement</p>	
<u>Borne inférieure de l'IC 95% :</u> $100 \left[1 - \frac{\overline{FEC}_t}{\overline{FEC}_c} e^{(2.048 * \sqrt{Y^2})} \right]$	
<u>Borne supérieure de l'IC 95% :</u> $100 \left[1 - \frac{\overline{FEC}_t}{\overline{FEC}_c} e^{(-2.048 * \sqrt{Y^2})} \right]$	

Annexe 13 : Formule du FECR₁ en tenant compte des excréments fécaux d'œufs des lots testés et du lot contrôle avant et après traitement, d'après (Falzon et al., 2015)

Formule du FECR :

$$FECR_2 = 100 * (1 - \frac{\overline{FEC}_{t2}}{\overline{FEC}_{c1}} * \frac{\overline{FEC}_{c2}}{\overline{FEC}_{t1}})$$

Où t₁ fait référence au lot traité prétraitement, t₂ au lot traité post-traitement, c₁ au lot contrôle prétraitement et c₂ au lot contrôle post-traitement

Covariance de c :

$$COVAR_c = \frac{1}{\overline{FEC}_{c1} + 0.25} + \frac{1}{\overline{FEC}_{c2} + 0.25} + \frac{2 * R_c}{\sqrt{(\overline{FEC}_{c1} + 0.25) * (\overline{FEC}_{c2} + 0.25)}}$$

Où R_c est la corrélation entre le FEC prétraitement et le FEC post-traitement du lot contrôle

Covariance de t :

$$COVAR_t = \frac{1}{\overline{FEC}_{t1} + 0.25} + \frac{1}{\overline{FEC}_{t2} + 0.25} + \frac{2 * R_c}{\sqrt{(\overline{FEC}_{t1} + 0.25) * (\overline{FEC}_{t2} + 0.25)}}$$

Où R_t est la corrélation entre le FEC prétraitement et le FEC post-traitement du lot traité

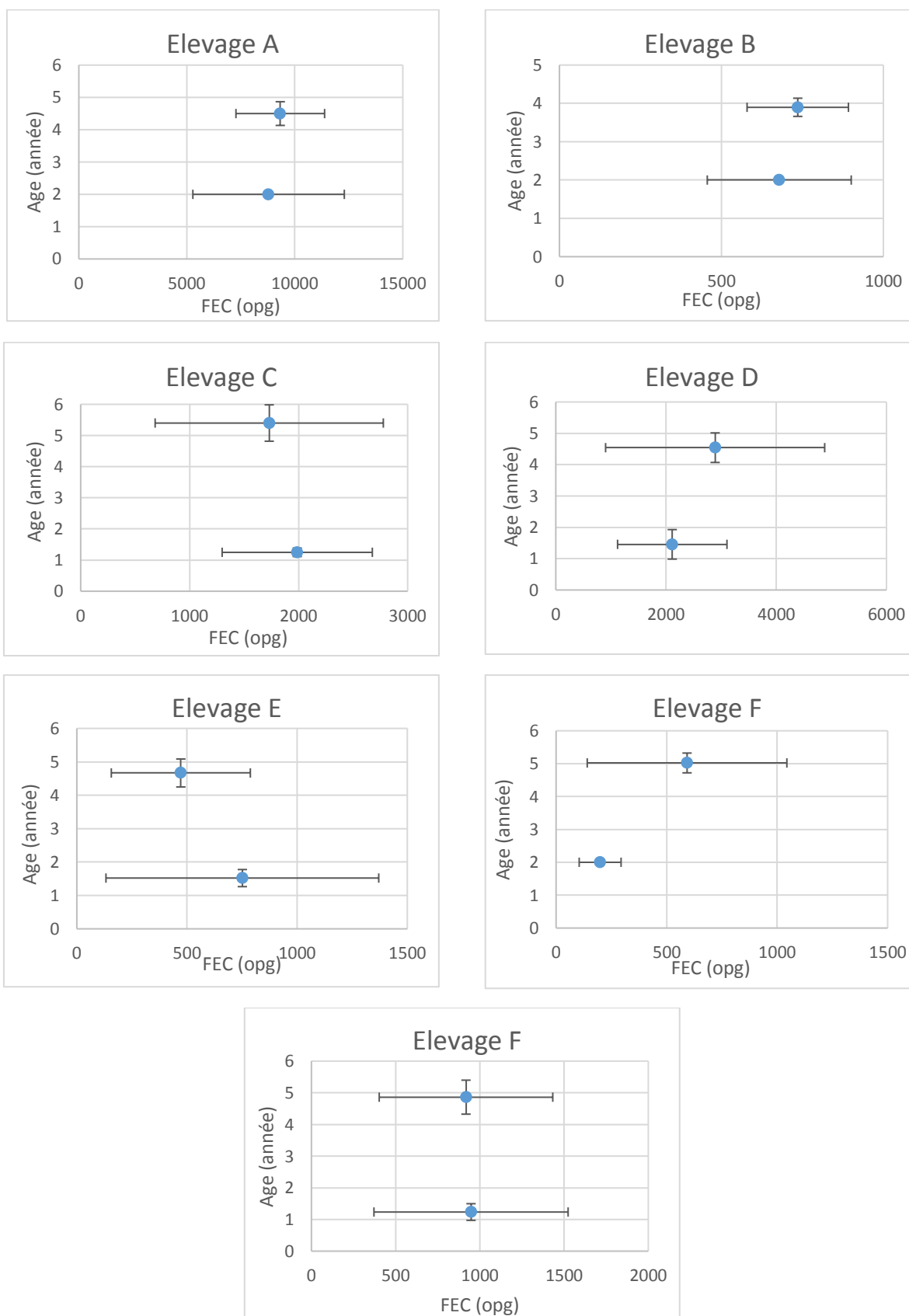
Borne inférieure de l'IC 95% :

$$100 \left[1 - \frac{\overline{FEC}_{t2}}{\overline{FEC}_{c1}} * \frac{\overline{FEC}_{c2}}{\overline{FEC}_{t1}} * e^{(\sqrt{COVAR_c + COVAR_t}) * 1.96} \right]$$

Borne supérieure de l'IC 95% :

$$100 \left[1 - \frac{\overline{FEC}_{t2}}{\overline{FEC}_{c1}} * \frac{\overline{FEC}_{c2}}{\overline{FEC}_{t1}} / e^{(\sqrt{COVAR_c + COVAR_t}) * 1.96} \right]$$

Annexe 14 : Comparaison de l'excrétion fécale d'œufs des brebis âgées de moins de 2 ans avec le reste du troupeau dans chaque élevage



Annexe 15 : FECR₁ obtenus en tenant compte les excréments fécaux d'œufs des lots testés et contrôles avant et après traitement, d'après (Falzon et al., 2015)

Lot	Résultat	Elevage A		Elevage B		Elevage C		Elevage D		Elevage E		Elevage F		Elevage G	
		Indi. J0	Indi. J14	Indi. J0	Indi. J14	Indi. J0	Indi. J14	Indi. J0	Indi. J14	Indi. J0	Indi. J14	Indi. J0	Indi. J14	Indi. J0	Indi. J14
Contrôle	FEC moyen (opg)	8675	6440	820	910	900	928,6	1333,3	1755,6	862,5	603,8	200	225	657,1	1014,3
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=7	n=7	n=9	n=9	n=4	n=4	n=4	n=4	n=7	n=7
Panacur® (fenbendazole)	FEC moyen (opg)	5995	730	705	405	1344,4	1058,9	4225	1027,5	550	593	310	122	521,4	325,7
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=9	n=10	n=10	n=5	n=5	n=5	n=5	n=7	n=7
	FECR (%)	83,6		48,2		23,7		81,5		-54,0		65,0		59,5	
	IC 95% (%)	[82,7 ; 84,5]		[43,4 ; 52,6]		[18,1 ; 28,9]		[80,6 ; 82,4]		[-62,5 ; -46,0]		[53,2 ; 73,9]		[56,6 ; 62,2]	
Lévamisole 5%® (lévamisole)	FEC moyen (opg)	14000	124	680	315	2061,1	140	1565	52	1342,9	164,3	383,3	25	931,3	80,6
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=9	n=10	n=10	n=7	n=7	n=6	n=6	n=8	n=8
	FECR (%)	98,8		58,3		93,4		97,5		82,5		94,2		94,4	
	IC 95% (%)	[98,6 ; 99,00]		[51,3 ; 64,2]		[92,3 ; 94,4]		[96,8 ; 98,0]		[80,6 ; 84,3]		[90,8 ; 96,4]		[93,4 ; 95,3]	
Oramec® (ivermectine)	FEC moyen (opg)	5490	41	775	23,5	1444,4	1,7	3725	0	528,6	8,6	1942,9	0	1306,3	20,6
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=9	n=10	n=10	n=7	n=7	n=7	n=7	n=8	n=8
	FECR (%)	99,0		97,3		99,9		100,0		97,7		100,0		99,0	
	IC 95% (%)	[98,6 ; 99,3]		[95,9 ; 98,2]		[99,5 ; 100]		[100]		[95,8 ; 98,7]		[100]		[98,5 ; 99,3]	
Cydectine® (moxidectine)	FEC moyen (opg)	10215	37,5	495	26,5	2865	0	3170	1,5	1606,3	47,5	650	2,14	611,1	0
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=8	n=8	n=7	n=7	n=9	n=9
	FECR (%)	99,5		95,2		100,0		99,96		95,8		99,7		100,0	
	IC 95% (%)	[99,3 ; 99,6]		[92,9 ; 96,7]		[100]		[99,8 ; 100]		[94,6 ; 96,7]		[98,9 ; 99,9]		[100]	
Zolvix® (monépantel)	FEC moyen (opg)	10920	1,5	535	1,5	2420	0	1170	0	1916,7	0	700	10,71	2585,7	0
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=3	n=3	n=7	n=7	n=7	n=7
	FECR (%)	99,98		99,7		100,0		100,0		100,0		98,6		100,0	
	IC 95% (%)	[99,91 ; 100]		[98,9 ; 99,9]		[100]		[100]		[100]		[97,5 ; 99,3]		[100]	
Seponver® (closantel)	FEC moyen (opg)	9860	500	1020	590	2640	1960	1683,3	93,4	300	300	407,1	138,6	1200	1093,8
		n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=9	n=9	n=2	n=2	n=7	n=7	n=8	n=8
	FECR (%)	93,2		47,9		28,0		95,8		-42,8		69,7		40,9	
	IC 95% (%)	[92,6 ; 93,7]		[43,8 ; 51,6]		[24,2 ; 31,7]		[95,0 ; 96,4]		[-44,8 ; -41,0]		[59,8 ; 77,2]		[37,0 ; 44,6]	

AGREMENT SCIENTIFIQUE

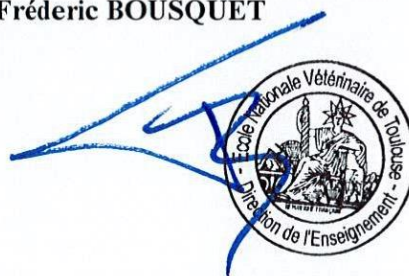
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Philippe JACQUIET, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse commune de **Aline RICHELME** et **Sébastien GREIL** intitulée « **Évaluation de la résistance des strongles gastro-intestinaux aux anthelminthiques dans sept élevages ovins allaitants du Limousin** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 10/09/2019
Professeur Philippe JACQUIET
Enseignant-chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



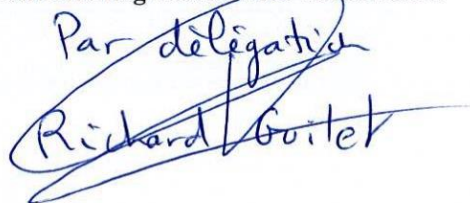
Vu :
Le Directeur par intérim de l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Toulouse
Frédéric BOUSQUET



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Gérard CAMPISTRON



Vu et autorisation de l'impression :
Présidente de l'Université Paul Sabatier
Madame Régine ANDRE-OBRECHT

Par délégation


Mme Aline RICHELME et Mr Sébastien GREIL
ont respectivement été admis sur concours en : 2014
ont obtenu leur diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 18/07/2018
ont validé leur année d'approfondissement le : 05/09/2019
n'ont plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

TITRE : EVALUATION DE LA RESISTANCE DES STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX AUX ANTHELMINTHIQUES DANS 7 ELEVAGES DU LIMOUSIN

RESUME : A l'aide du test de réduction de l'excrétion fécale (FECRT), la résistance aux anthelminthiques a été évaluée dans sept élevages ovins allaitants du Limousin. Six molécules ont été testées : le fenbendazole, le lévamisole, l'ivermectine, la moxidectine, le monépanтел et le closantel. Des coprocultures et une identification des larves obtenues par qPCR ont été réalisés. Aucune résistance au closantel n'a été trouvée dans l'espèce *H. contortus*. Dans les 7 élevages, une résistance au fenbendazole a été mise en évidence chez *H. contortus*, *T. circumcincta* et *T. colubriformis*. Dans 6 élevages, un statut douteux ou avéré de résistance au lévamisole a été montré. Les autres molécules (ivermectine, moxidectine et monépanтел) semblent encore efficaces même si des défauts d'efficacité sont signalés pour chacune d'elles dans des élevages différents ; *T. circumcincta* semble être l'espèce la plus souvent incriminée. Une évaluation de la faisabilité de l'utilisation de coprologies de mélange dans le FECRT en lieu et place des coproscopies individuelles a été réalisée et les résultats sont prometteurs.

MOTS-CLES : STRONGLES GASTRO-INTESTINAUX, NEMATODES, OVINS, ANTHELMINTHIQUE, RESISTANCE, FENBENDAZOLE, LEVAMISOLE, IVERMECTINE, MOXIDECTINE, MONEPANTEL, CLOSANTEL, COPROSCOPIE, INDIVIDUELLE, MELANGE, IDENTIFICATION, PCR, LIMOUSIN

TITLE : EVALUATION OF THE ANTHELMINTHIC RESISTANCE OF GASTROINTESTINAL NEMATODES IN 7 SHEEP FARMS IN LIMOUSIN

ABSTRACT : Using the Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT), anthelmintic resistance was evaluated in seven meat sheep farms in Limousin. Six molecules were tested: fenbendazole, levamisole, ivermectin, moxidectin, monepanтел and closantel. Coprocultures and identification of larvae obtained by qPCR were carried out. No resistance to closantel was found in *H. contortus* species. In the 7 farms, resistance to fenbendazole was found in: *H. contortus*, *T. circumcincta* and *T. colubriformis*. In 6 farms, a dubious or proven status of resistance to levamisole has been shown. The remaining molecules (ivermectin, moxidectin, monepanтел) appear to be still efficient even if a lack of efficiency is notified, in only one farm for each; *T. circumcincta* appears to be the most frequently implicated species. An assessment of the feasibility of using a composite fecal sample in FECRT instead of conventional method has been conducted: the results are promising.

KEY WORDS : GASTROINTESTINAL NEMATODES, STRONGYLID, SHEEP, ANTHELMINTHIC, RESISTANCE, FEBENDAZOLE, LEVAMISOLE, IVERMECTIN, MOXIDECTIN, MONEPANTEL, CLOSANTEL, FAECAL EGG COUNT REDUCTION TEST (FECRT), COPROLOGY, COMPOSITE FECAL SAMPLE, IDENTIFICATION, PCR, LIMOUSIN